



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**FOSFOMİSİN DİSODYUM KAPLI URETERAL
STENTLERİN SIK KARŞILAŞILAN UROPATOJENLERE VE
ENKRUSTASYONA KARŞI ETKİNLİĞİNİN İNVİTRO VE
İNVİVO OLARAK İNCELENMESİ**

Muharrem Murat YILDIZ

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet AKIN**

2008- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FOSFOMİSİN DİSODYUM KAPLI URETERAL
STENTLERİN SIK KARŞILAŞILAN UROPATOJENLERE VE
ENKRUSTASYONA KARŞI ETKİNLİĞİNİN İNVİTRO VE
İNVİVO OLARAK İNCELENMESİ**

Muharrem Murat YILDIZ

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet AKIN**

2008- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Mikrobiyoloji Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 04 /12 /2008

Prof.Dr. Ahmet AKIN

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Sulhiye
YILDIZ

Ankara Üniversitesi

Raportör

Prof. Dr.Nurten
ALTANLAR

Ankara Üniversitesi

Prof. Dr.Ufuk
ABBASOĞLU

Gazi Üniversitesi

Prof. Dr.Emir Baki
DENKBAŞ

Hacettepe Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Üriner Sistem Anatomisi	4
1.1.1. Böbrek	4
1.1.2. Üreter	4
1.1.3. Mesane	5
1.2. Böbrek Taşı	5
1.2.1. Sık Karşılaşılan Böbrek Taşı Cinsleri	5
1.2.2. Risk Faktörleri	5
1.3. Materyal Çeşitleri	6
1.3.1. Polimerler	6
1.3.2. Biyomateryaller	7
1.3.2.1. İdrara maruz kalan biyomateryaller	8
1.3.2.2. İdrara maruz kalmayan biyomateryaller	8
1.4. Stent	8
1.4.1. İdeal Bir Stentte Olması Gereken Özellikler	8
1.4.2. Stent Kullanım Yerleri	9
1.4.3. Double - J Kateter Uygulama İşlemleri	10
1.5. Double-J Stentler	10
1.5.1. Double-J Stent Çeşitleri	11
1.5.1.1. Standart Double-J Stentler	11
1.5.1.2. Hidrofil Kaplı Stentler	12
1.5.1.3. Triklosan Kaplı Stentler	12
1.5.1.4. Fosforil kolin Kaplı Stentler	12

1.5.1.5. Karbon Kaplı Stentler	13
1.6. Ürolojik Enfeksiyonlar	13
1.6.1. Enfeksiyon Eğilimine Neden Olan Faktörler	15
1.6.2. Konak Savunma Mekanizmaları:	15
1.6.3. Kateter Enfeksiyonları İçin Risk Faktörleri	15
1.6.4. Patogenez	16
1.7. Escherichia coli	17
1.7.1 Virülans faktörleri	18
1.8. Biyofilm Tabakası	20
1.9. Fosfomisin	20
1.10. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri	27
1.10.1. Polimer Kullanılan Kontrol Salım Sistemlerinin Mekanizmaları	29
1.10.2. Geçici Kontrollü Sistemler	30
1.10.3. Dağılım Kontrollü Salım Sistemleri	31
1.11. Plazma	31
1.11.1. Plazma Polimerizasyonu	31
1.11.2. Plazma Polimerizasyonunun Mekanizması	32
1.11.3. Biyomedikal Uygulamalarda Plazma Destekli Yüzey Modifikasyonu	33
1.11.3.1 Biyoayırma	34
1.11.3.2 Sterilizasyon	34
1.11.3.3 Oküler Protezler	34
1.11.3.4. Ortopedik Uygulamalar	34
1.11.3.5 Doku Kültürü Uygulamaları	35
1.12. Poli(etilen glikol)	35
1.13. Laboratuvar Tetkikleri	35
1.13.1. idrar kültürü	35
1.13.2. Kateterlerin Mikrobiyolojik İncelenmesi	37
2. GEREÇ VE YÖNTEM	38
2.1. Kimyasal Malzemeler	38
2.2. Yöntem	38
2.2.1. Fosfomisin Yüklü Double-J Stentlerin Hazırlanması	38
2.2.2. Fosfomisin Yüklü Double-J Stentlerin Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Modifikasyonu	39

2.2.2.1. Plazma Polimerizasyon Prosedürü	42
2.2.3. Deney Hayvanları Materyali	42
2.2.4. Sistoskopi ve Uygulanması	43
2.3. Karakterizasyon	44
2.3.1. Morfolojik İncelemeler	44
2.3.2. Double-J Stentlerin Yüzey Hidrofilisiteleri	44
2.3.3. İlaç Salım Çalışmaları	45
2.3.3.1. HPLC Yöntemiyle Fosfomisin Tayini	46
2.3.4. Enkrustasyon Oluşumu İncelenmesi	46
2.3.4.1. In Vitro Enkrustasyon Oluşumu	46
2.3.4.2. In Vivo Enkrustasyon Oluşumu	47
2.3.5. Bakteriyolojik İncelemeler	47
2.3.5.1. In Vitro Bakteriyolojik İnceleme	47
2.3.5.1. In Vivo Bakteriyolojik İnceleme İçin Numune Toplanması ve İncelenmesi	48
2.4. Tavşan Modeli Geliştirilmesi	49
3. BULGULAR	55
3.1. Morfolojik İncelemeler	55
3.1.1. 1.Hafta taşlaşma sonuçları	59
3.1.2. 6.Hafta taşlaşma sonuçları	60
3.1.3. 12.Hafta taşlaşma sonuçları	62
3.2. <i>In Vivo</i> Sonuçların Taramalı Elektrom Mikroskopisi ile İncelenmesi	63
3.3. Hazırlanan Double-J Stentlerin Temas Açıları	66
3.4. İlaç Salım Çalışmaları	67
3.5. Enkrustasyon Oluşumlarının İncelenmesi	69
3.5.1. In Vitro Enkrustasyon Oluşumu	69
3.5.2. In Vivo Enkrustasyon Oluşumu	72
3.6. EDX Analizi	74
3.7. Bakteriyolojik İncelemeler	77
3.7.1. In Vitro Bakteriyolojik İnceleme	77
3.7.2. In Vivo Bakteriyolojik İnceleme	79
4. TARTIŞMA	80
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	88
ÖZET	90
SUMMARY	91

KAYNAKLAR	92
EKLER	99
Ek-1. Etik Kurul Kararı	99
ÖZGEÇMİŞ	100

ÖNSÖZ

Hastalık tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile üreteral stentlerin kullanımı artmaktadır. Yaklaşık bir ile birbuçuk ay vücutta kalan stentlerin oluşturduğu önemli problemlerin başında enfeksiyon ve enkrustasyon gelmektedir.

Stentlerin üzerinde, bakteriler tarafından biyofilm tabakası oluşturulması saatler içinde meydana gelmektedir. Enkrustasyon ve bakteri eradikasyonu oral antibiyotiklerle mümkün olmayıp stentin çıkarılması gerekmektedir. Bunu önleme amacıyla çeşitli maddeler ile kaplı stentler yapılarak daha önceki çalışmalarda kullanılmıştır.

Bulgular, üzeri kimyasal madde kaplı stentlerin kullanımını yaygınlaştırarak ideal stentin oluşturulmasına ihtiyaç doğurmaktadır. Çalışmamızda bu alanda kullanılabilecek, daha etkili ve direnç gelişimini önleyebilen biyoyumlu stent ve antimikrobiyal maddenin araştırılması amaçlanmaktadır.

Araştırmamızda bakteriler üzerindeki MİK değerleri ile direnç gelişme oranı düşük, anti adhesiv etkisi ve idrar yollarına spesifitesi yüksek olan, gebelerde kullanma sınıfı B olan, ayrıca diğer organlarda bulunma veya tutulma oranı olmayan fosfomisin tercih edilmiştir.

Doktora eğitimim boyunca daima yol gösterici olan, yardımlarını esirgemeyen, bilimsel katkıları ile tezimin oluşmasını sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Ahmet AKIN'a, Farmasötik Mikrobiyoloji eğitimimin tamamlanmasında büyük yardımlarını gördüğüm hocalarım Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ ve Prof Dr. Nurten ALTANLAR'a minnet duygularımı sunarım.

Tezimin stent kaplanması bölümünü gerçekleştirdiğim, bilimsel yönlendirmesi ile multidisipliner bir çalışmanın ortaya çıkmasını sağlayan Hacettepe Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ, Tamer ÇIRAK, Burcu ASLAN, Tayfun VURAL ve asistan arkadaşlarıma içten teşekkürlerimi sunarım.

İn vivo çalışmalarımızda deneyimi ile bize katkıda bulunan GATA Biyofizik Anabilim Dalı Yrd. Doç Dr. Serdar DEMİRTAŞ ve fakültemiz deney hayvanları laboratuvarı sorumlusu İsmail BAŞER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı personel ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AES	Atomik Emisyon Spektroskopi
ATCC	American Type Culture Collection
EDX	Enerji Dispersiv X-ışını Spektroskopi
EMB	Eozin Metilen Mavisi
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
İYİ	İdrar Yolu Enfeksiyonu
PEG	Polietilen glikol
PLGA	Poli(DL-laktid-ko-glikolit)
RFGD	Radyo Frekanslı Yük Boşalımı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
UTI	Üriner Sistem Enfeksiyonu
Fr	French Length Unit
UDP	Üridin difosfat
TSI	Üç Şekerli Demirli Agar
MİK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Fosfomisinin kimyasal formülü	21
Şekil 1.2. Bakteri hücre duvar biyosentezinin basitleştirilmiş ilk basamağı UDP: Uridin difosfat	22
Şekil 1.3. 3 g fosfomisine eşdeğer oral tek doz fosfomisin trometamol uygulamasından sonra idrar ve serumdaki ortalama fosfomisin konsantrasyonları	23
Şekil 1.4. Konvansiyonel enjeksiyon ve kontrollü ilaç salım sistemiyle yapılan uygulamalarda ilacın zamanla plazmadaki konsantrasyonlarının gösterimi	28
Şekil 1.5. Poli(etilen glikol)'ün kimyasal yapısı	35
Şekil 2.1. Plazma polimerizasyon sistemi	40
Şekil 2.2. Fosfomisin yüklü modifiye double-J stentlerin hazırlanması şematik gösterimi	41
Şekil 2.3. Fosfomisin yüklü modifiye double-J stentlerin kesit şematik gösterimi	41
Şekil 2.4. Temas açısı ölçüm düzeneği	45
Şekil 2.5. Sistoskopi malzemeleri ve anestezi uygulanmış tavşan	50
Şekil 2.6. Tavşana sistoskopi işleminin uygulanması	51
Şekil 2.7. Fosfomisin kaplı stentin sistoskopi şiti içinden itilerek mesaneye yerleştirilmesi	51
Şekil 2.8. Mesaneye yerleştirilen düz ve yuvarlak stent parçaları	52

Şekil 2.9. Yerleştirme sonrası kontrol sistoskopisi	53
Şekil 3.1.A. Standart double-J kateter yüzeyi	55
Şekil 3.1.B. Fosfomisin yüklü PLGA ile kaplanmış double-j kateter yüzeyi	56
Şekil 3.1.C. Fosfomisin yüklü PLGA ile kaplandıktan sonra plazma polimerizasyonu ile PEG kaplanmış double-j kateter yüzeyi	56
Şekil 3.2. İlaç salım ortamında 3. Hafta sonrasında double-J stent yüzeyindeki polimerik kaplamanın degradasyonu	57
Şekil 3.3.A. Standart poliüretan stent üzerinde oluşan taşlaşmanın taramalı elektron mikroskop görüntüsü	58
Şekil 3.3.B. Fosfomisin yüklü PLGA ve PEG kaplı stent yüzeyinde oluşan taşlaşmanın taramalı elektron mikroskop görüntüsü	58
Şekil 3.4.A,B. 1.Hafta kontrol ve PLGA kaplı stentlerin optik mikroskop görüntüsü	59
Şekil 3.4.C,D. 1.Hafta Fosfomisin yüklü PLGA kaplı stent ve sadece PEG ile kaplanmış stentin optik mikroskop görüntüsü	59
Şekil 3.4.E,F. 1. Hafta Fosfomisin yüklü PLGA ve 5dk PEG kaplı stent ve fosfomisin yüklü PLGA ve 30dk PEG kaplı stentin optik mikroskop görüntüsü	60
Şekil 3.5.A,B. 6.Hafta Kontrol ve PLGA kaplı stentlerin optik mikroskop görüntüsü	60
Şekil 3.5.C,D. 6.Hafta Fosfomisin yüklü PLGA kaplı stent ve sadece PEG ile kaplanmış stentin optik mikroskop görüntüsü	61
Şekil 3.5.E,F. 6.Hafta Fosfomisin yüklü PLGA ve 5dk PEG kaplı stent ve fosfomisin yüklü PLGA ve 30dk PEG kaplı stentin optik mikroskop görüntüsü	61

Şekil 3.6. A,B. 12. Hafta kontrol ve fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentlerin optik mikroskop görüntüsü	62
Şekil 3.6.C. 12.Hafta fosfomisin yüklü PLGA ve 30dk PEG kaplı stentin optik mikroskop görüntüsü	62
Şekil 3.7. 1.Hafta kontrol stentinin A) 19, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	63
Şekil 3.8. 1. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış kontrol stentinin A)16, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	63
Şekil 3.9. 1. Hafta 5dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)10, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	64
Şekil 3.10. 1. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)43, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	64
Şekil 3.11. 6. Hafta kontrol (standart poliüretan) stentinin A)20, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	64
Şekil 3.12. 6. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)20, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	65
Şekil 3.13. 12. Hafta kontrol (standart poliüretan) stentinin A)15, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	65
Şekil 3.14. 12. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)19, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü	65
Şekil 3.15. Kontrol, PLGA ile kaplanmış ve PEG ile kaplanmış stentlerin durağan damlacık yöntemi ile elde edilmiş temas açısı görüntüleri	67
Şekil 3.16. Fosfomisinin zamanla polimerik kaplamalardan potasyum dihidrojen içerisine salım profili	67

Şekil 3.17. Fosfomisin zamanla polimerik kaplamalardan potasyum dihidrojen içerisinde yüzde salım profili	68
Şekil 3.18. 3.Hafta sonunda stent yüzeylerinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre dağılımları	69
Şekil 3.19. 3.Haftalık dönemde kontrol stenti yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre dağılımları	70
Şekil 3.20. Kontrol ve PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 3. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX Analizi dağılımı	71
Şekil 3.21. 1. haftalık dönemde kontrol stenti ve modifiye edilmiş stentlerin yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre dağılımları	72
Şekil 3.22. Kontrol stenti yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre zamana bağlı dağılımları	73
Şekil 3.23. PLGA + fosfomisin + 30dk PEG kaplanmış stent yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre zamana bağlı dağılımları	74
Şekil 3.24. Kontrol ve PEG kaplı stent yüzeyinde 1. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı	75
Şekil 3.25. 5dk ve 30 dk PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 1. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı	75
Şekil 3.26. Kontrol stenti ve 30 dk PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 6. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı	76

- Şekil 3.27. Kontrol stenti ve 30 dk PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 12. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı 76
- Şekil 3.28. Polimerik kaplamanın ve yüklenen fosfomisin miktarının hücre yapışmasına etkisi 77
- Şekil 3.29. Plazma polimerizasyonu ile polietilen glikol kaplanmış örneklerde polimerik kaplamanın ve yüklenen fosfomisin miktarının hücre yapışmasına etkisi 78

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Komplike olmamış ve rekürrent üriner sistem enfeksiyonlarının etiyolojisi	14
Çizelge 1.2. 3 g fosfomisine eşdeğer oral tek doz fosfomisin trometamol uygulamasından sonra değişik zaman noktalarında ortalama idrar konsantrasyonları	23
Çizelge 1.3. Fosfomisin trometamolün etkinliği	24
Çizelge 2.1 Tavşanlara yerleştirilen stentlerin özellikleri	43
Çizelge 3.1.Hazırlanan double-J stentlerin temas açıları	66
Çizelge 3.2. Kontrol ve modifiye stent yüzeyinde 3. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi	71
Çizelge 3.3. Kontrol ve modifiye stent yüzeyinde enkrustasyon oluşumunun EDX analizi	74

1.GİRİŞ

Hastalık tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile üreteral stentlerin kullanımı artmaktadır. Yapılan rekonstruktif ameliyatlar, darlık giderilmesi ameliyatlarının artması ile üreteral stentler ürolojinin vazgeçilmez öğelerinden biri olmuştur. Yaklaşık bir ile bir buçuk ay vücutta kalan stentlerin oluşturduğu önemli problemlerin başında infeksiyon ve enkrustasyon gelmektedir.

Stentlerin üzerinde, bakteriler tarafından biyofilm tabakası oluşumu saatler içinde geliştirilmektedir (Roupret ve ark., 2005). Hastanın immün sisteminde biyofilm oluşumuna karşı rezistans gelişimi artmakta ve antibiyotikler bu durumu engelleyememektedir.

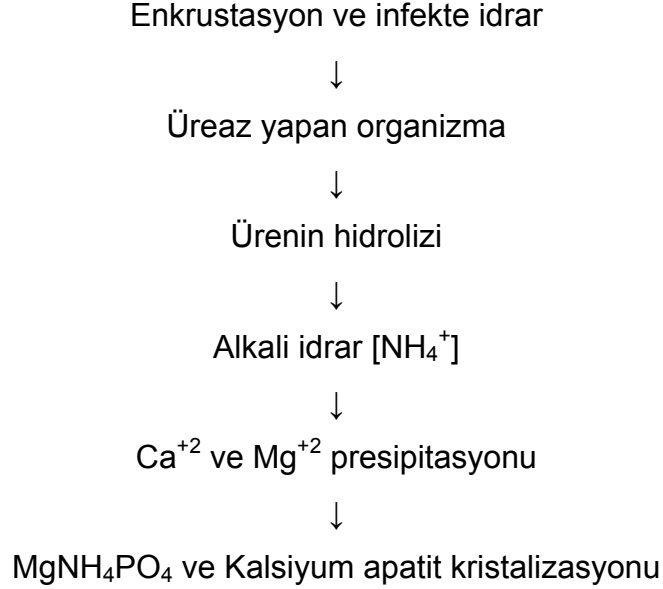
Stent enkrustasyon oluşumunda 3 ana faktör rol oynar (Roupret ve ark. 2005; Sofer ve Denstedt 2000) :

- Stentin idrar ile temas süresinin uzaması,
- Poliürethan stentlerin kullanımı,
- Kronik bakteriyel enfeksiyon.

Bakteriyel biyofilmler tüm stent (ürolojik, kardiyolojik, radyolojik, vasküler vb.) yüzeylerinde oluşur. Biyofilm içinde gömülü bakteriler zor eradike edilir. Biyofilm oluşmuş stentlerin % 60-90'ında gömülü bakteri vardır. Bunların %30'unda idrar yolu infeksiyonu (İYİ) izlenir. (Lifshitz ve ark.,1997; Liedl, 2001)

Üreaz enzimine sahip bakteriler (*proteus*, *klebsiella*, *pseudomonas* ve *stafilokoklar*) amonyum yaparak pH'ın yükselmesine ve bu da piruvat taşlarının oluşumuna neden olmaktadır.

Mekanizmanın çalışması şu şekilde olmaktadır (Riedl ve ark., 1999; Liedl, 2001; Kehinde ve ark., 2002; Watterson ve ark., 2003; Paick ve ark., 2003; Borin ve ark., 2005).



Enkrustasyon ve bakteri eradikasyonu oral antibiyotiklerle mümkün olamayıp stentin çıkarılması gerekir (Farsi ve ark. 1995; Denstettedt ve ark, 2000; Koçak ve ark, 2000; Yeniyol ve ark. 2002). Bunu önleme amacıyla yapılan önceki çalışmalarda triklosan ve fosforilkolin kaplı stentler kullanılmıştır (Wood, 1999a,b; Russell, 2000; Schwaibold, 2001; Heidenreich ve ark. 2002; Chew ve ark, 2005; Traxer ve ark, 2005; Jones ve ark, 2006).

Bulgular, üzeri kimyasal madde kaplı stentlerin kullanımının yaygınlaştırarak ideal stentin oluşturulmasına ihtiyaç doğurmaktadır. Çalışmamızda bu alanda kullanılabilecek, daha etkili ve direnç gelişimini önleyebilen biyouyumlu stent ve antimikrobiyal maddenin araştırılması amaçlanmaktadır.

Bu noktadan hareketle çalışmamızda fosfomisin kaplı üreteral stentler kullanarak *invivo* ortamlarda fosfomisin kaplı stent parçalarının, en sık karşılaşılan üropatojen *E. coli* bakteri suşuna karşı olan antibakteriyel ve enkrustasyonu önlemedeki etkinliğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda tavşan seçilmesinin nedeni tavşan mesanesinin hiperkalsiurik ortama sahip olmasıdır. (Borin ve ark, 2005).

Araştırmamızda fosfomisini seçmemizin nedeni ise, onun çeşitli bakteriler üzerindeki minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri ile direnç gelişme oranının düşük, antiadhesiv etkisinin olması, idrar yollarına spesifik olması, ayrıca diğer organlarda bulunma veya tutulma oranının olmaması, gebelerde kullanma sınıfının B olmasıdır (Palmieri, 1988; Romero ve ark 1989; Crochiolo P, 1990; Reeves, 1992; Cortes ve ark, 1992; Aflay ve ark, 2005;).

Üreteral stentlerin kullanımının artması ile komplikasyon ve morbidite oranlarının da artması giderek önemli bir yer oluşturmaya başladı. Diğer tıp dallarında da kullanılan stentlerin uzun ömürlü olması, buna karşın minimal morbidite oranlarına sahip olması için çalışmalar da artış göstermiştir. Bu alanda yapılan çalışmaların sonuçlarında ortak nokta, direnç oluşumunun önlenememesi, ürospesifik etkili biyouyumlu ideal antibakteriyel maddeye ulaşılamamasıdır.

Fosfomisinin daha önce stent teknolojisinde kullanılmamış olması etken madde seçiminde yön gösterici olmuştur. Bu yönü ile bu çalışma bir ilk olacaktır.

Daha önceki çalışmalarda kullanılan aktif madde kaplı stentler üretici firma tarafından yapılmış olan standart stentlerdir. Bizim çalışmamızda stentin aktif madde ile kaplanması işlemi çalışmanın bir parçasını oluşturmakta olup ilerideki çalışmalarda farklı maddeler kaplanarak karşılaştırmalı çalışmaların yapılmasına yol gösterici olacaktır. Bu yönden de metodoloji olarak diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

Çalışmamızın *invivo* ve *invitro* olarak yapılabilecek olması sonuçların birbiriyle karşılaştırılmasını sağlayacaktır.

Çalışmanın sonucunda elde edilecek veriler ışığında, ürolojide gereksiz profilaktik antibiyotik kullanımının önlenmesi, dirençli suşların, hastane infeksiyonlarının ve ürolojik komplikasyonların gelişiminin azaltılması yolunda yararlı veriler elde edileceği düşünülmektedir.

1.1. Üriner Sistem Anatomisi

1.1.1. Böbrek

İnsanlarda, böbrekler karın bölgesinin arka bölümünde, bir başka deyişle karın zarı arkası (retroperitoneal) bölgesinde yer alırlar. Böbrekler, süzülmemiş kanı karın bölgesi aorttan böbrek arterleri yoluyla almaktadırlar. Böbreğe giden kan, kalbin pompaladığı toplam kanın (kardiyak debi) üçte birine ulaşabilir. Süzülen kan *vena kavaya* geri döner. Böbrekten ayrılan idrar borusu (üreter) takip edilerek böbreğin içine ilerledikçe huni biçiminde bir boşluk olarak genişler; buna havuzcuk (pelvis) denilmektedir.

1.1.2. Üreter

Üreterler, böbrek ile idrar torbası arasında bulunurlar. 25-30 cm uzunluğunda, 4 - 7 mm çapında, kas liflerinden oluşmuş boru şeklinde yapılardır. Böbreklerde oluşan idrar bu ince borucuklar vasıtasıyla idrar kesesine ulaşır. Üreterin üç yerde darlığı vardır. Birinci darlık başlangıç yerinde, ikinci darlık iliak arteri çaprazladığı yerde, üçüncü darlık da idrar torbasına girdiği yerdedir. Üreteral stentler böbrek pelvisi ile idrar kesesi arasındaki bu organın içine yerleştirilir.

1.1.3. Mesane

İdrar torbası olarak adlandırılır. Yoğun kas liflerinden oluşmuş, idrarın depolandığı, genişleme özelliği bulunan torba biçiminde bir yapıdır. İdrar torbası dolduğunda, torbanın duvarını oluşturan kas lifleri gerilerek idrara çıkma hissi uyandırır ve duvarındaki kasların kasılması ile idrar torbası boşalır. Kadınlarda pelvis boşluğunun tabanında, erkeklerde rektumun önünde ve prostatın üzerindedir.

1.2. Böbrek Taşı

"Nephrolithiasis" ya da, "urolithiasis" olarak bilinen, böbreklerde biriken madensel maddelere verilen isimdir. Kalsiyum, oksalat veya ürik asit gibi maddeler idrarda içerisinde normalde beklenenden daha yüksek yoğunlukta bulunursa böbrek taşı oluşur. Bu maddeler kristaller halinde böbrekte çökebilir ve zaman içerisinde büyüyerek böbrek taşını meydana getirir.

1.2.1. Sık Karşılaşılan Böbrek Taşı Cinsleri

- Kalsiyum oksalat ve fosfat,
- Magnezyum amonyum fosfat (strüvit taşları),
- Ürik asit,
- Sistin.(EAU guidelines, 2006)

1.2.2. Risk Faktörleri

Taşı oluşturan kesin neden bilinmemekle beraber risk faktörleri şunlardır:

- İdrar yolu infeksiyonu
- Böbrekteki yapısal bozukluklar
- Böbrek hastalığı olanlar (renal tübüler asidoz, kistik böbrek hastalığı)

- Beslenme alışkanlıkları
- Yetersiz sıvı alımı
- Sıcak iklim kuşağında yaşamak
- Hiperkalsiüri, sistinüri, hiperokzalüri, hiperürikoze
- Bazı ilaçlar (asetazolamide, anti viral ilaçlar)
- Bazı bağırsak hastalıkları (inflamatuvar bağırsak hastalığı)
- Genetik faktörler
- Geçirilmiş bağırsak ameliyatları (jejunum ileal by-pass)
- Metabolik hastalıklar (örn. Hiperparatiroidizm, gut hastalığı...) (EAU guidelines, 2006)

1.3. Materyal Çeşitleri

Teknik anlamda kullanılan materyaller metaller, seramikler ve polimerler olarak üç temel başlık altında sınıflandırılabilirler. Bu sınıflandırma sadece interatomik bağların tipleri yardımıyla kabaca tanımlanmıştır (Ratner ve ark, 1996).

1.3.1. Polimerler

Klasik polimerlerin yapısını oluşturan atomlar genellikle karbondur ve bu atomlar birbirlerine kovalent bağlarla lineer zincir benzeri bir yapıda bağlanmışlardır.

Bu zincirlerin düzeni esasına dayanarak, polimerler iki başlık altında incelenebilirler. Yapılarında çok az veya hiç dallanma göstermeyen 'düz' zincirli polimerler, yapılarında bir değişim olmaksızın eritilebilirler. Bu da üretimde avantaj sağlamaktadır ve bu nedenle termoplastik polimerler olarak adlandırılırlar. Eğer yan zincirler mevcut ise ve zincirler arası kovalent bağlar

oluşuyorsa, üç boyutlu ağ yapısı meydana gelir. Bu tip yapılar genellikle güçlüdür, fakat ısıtılma işlemiyle bir kez oluşturulan yapı tekrar ısıtılmayla aynı özellikleri gösterecek şekilde eritilemez. Bu tip polimerlere termoset polimerler denir (Ratner ve ark, 1996).

1.3.2. Biyomateryaller

Doğal veya sentetik yapı, hastaların tedavisinde kullanılan ve herhangi bir düzeyde doku ile temas eden oluşumlar biyomateryal olarak tanımlanmaktadır.

Üreteral double - J stentler materyal, dizayn, boyut ve yüzeyini kaplayan materyal tipi açısından çeşitlilik gösterir. Mardis ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (1993), çeşitli biyomateryallerden yapılmış stentler gerilme gücü, koil kalıcılık gücü, biyouyumluluk (hasta vücudunun materyale toleransı), biyodayanıklılık (biyobozunuma karşı direnci), radyoopasite, durometri (materyal yumuşaklığının derecesi) ve yüzey sürtünmesi gibi kriterler kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada varılan sonuca göre stent için en uygun biyomateryalde olması gereken özellikler;

- a)Yüksek gerilme gücü,
- b) Yüksek koil kalıcılık gücü,
- c) Mükemmel biyouyumluluk ve biyodayanıklılık,
- d) Mükemmel radyoopasite,
- e) Çeşitli durometriler,
- f) Düşük yüzey sürtünmesidir (Mardis ve ark,1993).

Üriner sistem etkilerine tamamen karşı koyabilecek özelliklerde biyomateryal üriner sistem içinde oluşturulamamıştır. Malzemeye bağlı üriner sistem enfeksiyonu ve taşlaşma durumu önemli morbidite oluşturmaktadır. Temel sınırlayıcı faktör ise biyomateryallerin üriner sistemde uzun süre kullanılıyor olmasıdır.

1.3.2.1. İdrara maruz kalan biyomateryaller:

- Üreteral kateter
- Üreteral stentler
- Perkutan nefrostomi
- Üreteral stentler
- Mesane/üreteral kullanılan materyaller

1.3.2.2. İdrara maruz kalmayan biyomateryaller:

- Testiküler ve penis protezleri
- Pubovajinal veya transobturator sling materyalleri
- Artifişiyal sfinkter

1.4. Stent

Vücuda yerleştirildikten sonra kendi bütünlüğü veya açık ağızlarıyla, ve konum itibarıyla boşluk sağlayan parça ya da tüp şeklinde tübüler yapısı olup içinde lümen yapısı bulunduran anastomoz veya grefti koruyan kateter olarak tanımlanır. (Wikipedia, 2008)

1.4.1. İdeal Bir Stentte Olması Gereken Özellikler:

- Biyouyumlu, biyolojik olarak uygun olmalıdır (etrafındaki dokularda reaksiyona neden olmamalı ve vücut dokuları tarafından değiştirilmemelidir).
- Radyopak olmalıdır (floroskopi altında kolayca takılabilmeli ve radyografik olarak takiplerinde durumunu korumalıdır).
- İntraluminal ve ekstraluminal tıkanıklığı rahatlatacak kadar rijit olmalı, rijiditesi stent takılımını da kolaylaştırmalıdır.

- Enkrustasyona ve infeksiyonlara dirençli olmamalıdır.
- Konforlu olmalı ve hastalarda çok az rahatsızlığa neden olmalıdır.

Bu özellikleri içeren stent gerçekte oluşturulamamıştır (Duvdevani ve ark, 2006).

1.4.2. Stent Kullanım Yerleri

Üreteral Stent Yerleştirme Amaçları (Saltzman, 1988; Seymour ve Patel, 2000)

- Benign ya da malign obstrüksiyonun giderilmesi amacıyla
- Taş tedavisine yardımcı olmak amacıyla
- Obstrüksiyon önlemek için
- ESWL için
- İntraluminal lithotripsi için
- Üreteral enstrümantasyon için
- Taşın görüntülenmesi için
- Ameliyat sırasında yerleştirme amacıyla
- Drenajın sağlanması için
- Luminal çapın sağlanması için
- Üreteral girişim sonrası için
- Üreter(ler)in bulunmasında kolaylık sağlaması için
- İdrar ekstravazasyonunun tedavisi amacıyla
- Travma ya da cerrahiden kaynaklanan kaçak takibi amacıyla
- Üreteral fistüle bağlı ekstravazasyon takibi amacıyla

1.4.3. Double - J Kateter Uygulama İşlemleri

- Böbrek taşlarında ESWL öncesi (taş>3cm ya da multipl taşlar)
- Soliter böbrek taşlarında ESWL öncesi
- Pyelolitotomi (Rezidü taş)
- Pyeloplasti
- Serviks kanseri (Proflaktik)
- Anüri
- Augmentasyon Sistoplasti
- Ürinoma
- Üreteroneosistostomi
- Tailoring operasyonu
- Üreterokalikostomi
- Akut pyelonefrit + Böbrek taşı
- Mesane tümörü (üreter orifislerini tutmuş)
- Üreterorenoskopi esnasında taşın geri kaçması
- Üretero üreterostomi
- Üreteroselin endoskopik insizyonu

(Finney, 1978; Hollenbeck ve ark, 2001)

1.5. Double-J Stentler

Üzerinde ve içinde idrarın boşalması için boşlukları olan iki ucu daire şeklinde kıvrık üreter kateteridir. Kalıcı üreteral kateterler ilk kez bir üreterovaginal fistül tedavisi için 1967 yılında Zimskind ve arkadaşları tarafından silikonize bir tüpün sistoskop aracılığı ile üretere yerleştirilmesi ile kullanılmaya başlanmıştır (Zimskind ve ark, 1967). Bu tarihten sonra birçok değişikliğe uğrayan üreteral kateterler, 1978 yılında Finney tarafından geliştirilen kılavuz telli double-j kateterler ile geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Sofer ve Denstedt, 2000).

Üroloji pratiğinde double j stentlerin kullanımının yaygınlaşması ile birlikte, komplikasyonların görülme sıklığı da gittikçe artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda; proksimale ve distale migrasyon, enkrüstasyon, fragmentasyon, hastanın huzursuzluğu, irritatif mesane semptomları, makroskopik hematüri, taş oluşumu, miksiyon sırasında reflü, lomber ağrı, erozyon ve fistül oluşumu, bakteriüri, sepsis, perirenal alana migrasyon, double j'nin unutulması, komplet proksimal rüptür olabildiği bildirilmiştir. (Ayyıldız ve ark., 2005)

1.5.1. Double-J Stent Çeşitleri

1.5.1.1. Standart Double-J Stentler

Standard üreteral double J stentler öncelikle uzun dönem (kalıcı) ve kısa dönem (geçici) olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. Uzun dönem stentler 3~5 ay, kısa dönem stentler 1 ay kadar üreter içinde kalabilmektedir. Bu farkı belirleyen de stentlerin üretildikleri malzemedir. Uzun dönem stentlerin materyalleri, silikon ya da benzeri polimerlerden yapıldığından üreter içinde daha uzun süre kalırlar.

Double J stentler, kullanılacak olan üreterin özellikleri ve kullanıcının tercihinine göre, uçlarının yapısı (bir uç açık bir uç kapalı, her iki uç açık), Uzunlukları (santimetre) ve kalınlıkları (ch ya da fr) farklı olarak üretilirler. Ayrıca bu stentler, geri alınmayı kolaylaştırmak için, mesane tarafında bir ipe sahiptir.

1.5.1.2. Hidrofil Kaplı Stentler

Poliüretan'dan yapılma, uzun süre kalabilecek şekilde tasarlanmış stentlerdir. Hydrofeel® kaplanmış stentler sıvılarla hemen reaksiyona girerek yüksek derecede yağlanmış bir hal almakta, bu da stentin yerleştirme sırasında sürtünmesini azaltmaktadır. Aynı zamanda Hydrofeel® kaplama inkrustasyon riskini minimize etmektedir (Mana-tech, 2008).

1.5.1.3. Triklosan Kaplı Stentler

Triklosan antimikrobiyal olarak yağ asit sentezini ve bakteriyel hücre duvarı integrasyonunu bozmaktadır. Triklosan kaplı üreteral kateter kullanılarak yapılan çalışmalarda; bakterisidal ve bakteriyostatik etki; *E.coli*'nin virulan faktör salınan tipi ve sık karşılaşılan bakteriyel üropatojenlere karşı test edilmiş, sonuçta triklosanın *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus mirabilis*'in çoğalmasında doza bağlı olarak baskılandığı tespit edilmiştir. (Jones ve ark, 2005; Chew ve ark, 2005)

1.5.1.4. Fosforilkolin Kaplı Stentler

Fosforilkolin (Phosphorylcholine) kaplı üreterik stentlerin kaplı olmayanlara göre yüzde elli daha az üriner sistem enfeksiyonuna neden olduğu, stent enfeksiyonunun ise kaplı olmayan poliüretan stentlerde %2.8, kaplı olan stentlerde %3.1 oranında fazla olduğu, buna karşın enkrustasyonun kaplı stentlerde %3.1 kaplı olmayanlarda % 5.9 oranında fazla olduğu tespit edilmiştir (Heidenreich ve ark, 2002; Russell, 2000; Wood, 1999a; Wood ve ark, 1999b).

Bu madde biyofilm ve enkrustasyon oluşumunu engellemekte ve halen uzun süreli kontakt lensler ile kalp ve ürolojik stentlerde kullanılmaktadır. (Willis ve ark., 2001; Heidenreich ve ark.,2002) Laboratuvar şartlarında idrar modeli ortamında *E.coli* ile yapılan çalışmalarda 18 saatlik inkubasyon süresince

bakteriyel adezyonu %90 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Fosforilkolin malzemenin iç ve dış yüzeyini kaplayarak biyofilm oluşumunu kısmen de enkrustasyon oluşumunu önlemektedir. (Wood ve ark, 1999; Schwaibold, 2001; Urologische Nachrichten, 2001).

1.5.1.5. Karbon Kaplı Stentler

Diamond-like karbon kaplı stentlerin invitro modelde üç aya kadar biyofilm tabakası oluşumunu önlediği ve infeksiyon ve inkrustasyon riskini düşürdüğü, magnezyum ve kalsiyum taşlaşma miktarının kaplanmamış olanlara göre az olduğu belirtilmiştir. Daha az hidrofobik olan kaplamanın taşlaşmaya daha dirençli olduğunu tespit edilmiştir. Bu durum düşük retraktif indeksle orantılı bulunmuş (Laube ve ark, 2007).

1.6. Ürolojik İnfeksiyonlar

İdrar yolu infeksiyonları insanlarda tüm yaş gruplarındaki en yaygın bakteriyel infeksiyondur. Hastane dışında solunum yolundan sonra en sık görülen infeksiyondur. Hastane dışında yazılan reçetelerin % 15'i bu endikasyondadır. Hastanede gelişen en sık infeksiyon olup nozokomial infeksiyonların % 40'ı olup; % 80 katetere bağlı % 10 diğer enstrümantasyonlara bağlı gelişir. (Haley ve ark., 1985; Turunç, 2003)

Üriner trakt normalde distal üretraya kadar sterildir. Bunun nedenleri arasında idrar akımı nedeniyle bakterilerin dilüsyonu, mukozadan IgA sekresyonu ve ürotelyumun kendini koruma yeteneği önemli faktörlerdir.

Bakteriyel bir assendan infeksiyonda, virulans saptanmasında üroepitelyel hücrelere adhezyon anahtar bir faktördür. Bakteri yüzeyindeki pililer tarafından üretilen bakteriyel adhesinler ürotelyum yüzeyindeki spesifik

reseptörlerle etkileşir. Bu mekanizma patogeneizde önemlidir ve *E.coli*'nin sahip olduğu p.fimbriae buna iyi bir örnektir.(Reid ve Sobel, 1987)

Bu savunma mekanizmalarının kırılmasıyla üretra'ya veya kan akımı yoluyla mesane'ye bakteriler girer. Bakteriüri terimi idrarda bakteri varlığını ifade etmek için kullanılır. Çıkarılan idrarda veya üretral kateterizasyon ile elde edilen idrarda bakteri sayısı hesaplanabilir. İdrardaki bakteri sayısı anterior üretra kontaminasyonuna bağlı bakteri sayısından çok olduğunda "anlamli bakteriüri" terimi kullanılır (idrarda her mL'sinde 10^5 'ten daha fazla bakteri). Aseptomatik bakteriüri, semptomların olmamasına karşın anlamli bakteriüri varlığı için kullanılır.

Çizelge 1.1. Komplike olmamış ve rekürrent üriner sistem enfeksiyonlarının etyolojisi (Jellheden ve ark., 1996).

Komplike olmamış ÜSE	
Escherichia coli	% 80 - 90
Klebsiella türleri	% 4 - 8
Proteus türleri	
Enterobacter türleri	
Staphylococcus saprophyticus	% 5 - 12
Enterococcus türleri	
Rekürrent ÜSE	
Escherichia coli	% 60 - 70
Proteus türleri	% 10 - 15

1.6.1. İnfeksiyon Eğilimine Neden Olan Faktörler

- Perianal bölgede üropatojenlerin kolonizasyonu; antibiyotik tedavisi veya üretral kateterizasyon sonrası oluşur.
- Mesane kateterizasyonu.
- İdrar akımı obstruksiyonu; canlı bakteriler 26 ml/dk idrar akımına karşı ilerleyebilir.
- Mesane mukozası hasarı.
- İmmunosupresif hastalarda infeksiyon sıklığı genelde artmaz, ciddiyeti ve komplikasyon sıklığı artar

1.6.2. Konak Savunma Mekanizmaları:

- Normal perianal flora; burada laktobasiller, streptokoklar ve koagülaz negatif stafilokoklar rol alır.
- Üriner sistemin anatomik bütünlüğü.
- Normal işeme fonksiyonu.
- Normal fagosit fonksiyonları.

Konakçı ile parazit arasındaki etkileşim de üriner sistem infeksiyonunun patogeneğinde önemli bir konudur. Bir çok tür mikroorganizma üriner sistem infeksiyonuna neden olsa da en sık etken *E.coli*'dir. Taşlar obstrüksiyona neden olarak üriner sistem infeksiyonlarına olan duyarlılığı arttırabilir.

1.6.3. Kateter İnfeksiyonları İçin Risk Faktörleri

- Kateterizasyon süresi ve kateter lokalizasyonu,
- Kötü aseptik teknikler, sık manipülasyonlar,
- Burun ve/veya ciltte kronik staf. aureus taşıyıcılığı,
- Diyabetik hastalar, ağır malnutrisyon (hipoalbuminemi),

- Kateter materyali ve lümen sayısı,
- Granülositopeni, immünoşupressif tedavi,
- Uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması,
- Trakeostomi, kolostomi gibi durumların varlığı,
- Başka yerde infeksiyon odağı (hematojen yayılım).

1.6.4. Patogenez

Mikroorganizmanın giriş yeri:

1- Kateterin ciltteki giriş yerinden (eksternal yol):

Geçici kateterle ilişkili bakteriyemilerin % 50-80'inde kaynak giriş yeridir. Giriş yerindeki koloni sayısı ile eksternal kateter kolonizasyonu ve bakteriyemi arasında yakın ilişkili gösterilmiştir. İlk 10 günlük dönemde kateter kolonizasyonu ve infeksiyonun en sık nedeni kateter giriş yeridir.

2- Kateter iç yüzeyinden (luminal veya internal yol):

Genellikle kateter ile setin birleşim yerinden bulaşır. Bakteriler genellikle sağlık personelinin ellerinden bulaşır, internal kolonizasyon ve bakteriyemiye yol açar. İlk 10 günden sonra daha yaygındır. Kalıcı (kaflı tünelli) kateterlerde bu yol en önemli infeksiyon kaynağıdır.

3- İnfüzyon sıvılarının kontaminasyonu ile,

4- Hematojen yol (çok nadir).

Mikroorganizmaların kateter yüzeyine yapışmasında;

a- Konağa ait faktörler: Kateter yüzeyi kısa sürede konakçı proteinleri ile kaplanır (biyofilm). Biyofilm tabakası fibrin ve fibronektinden zengin olup bu maddeler *staf. aureus* ve *candida* türlerinin yapışmasını kolaylaştırır. Biyofilm tabakası bir bariyer gibi de görev yaparak bakterinin antibiyotiklerden, fagositik nötrofillerden ve antikorlardan korunmasını sağlar.

b- Mikroorganizmaya ait patolojik faktörler:

Özellikle koagülaz negatif stafilokoklar ekstrasellüler slime üreterek kateter yüzeyine doğrudan yapışma yeteneğine sahiptir. Oluşan glikokaliks katmanı biyofilmin mikrobiyolojik componentini oluşturur ve bakteriyi konağın immün yanıtından korur. Elektron mikroskopik çalışmalarda kültür negatif de olsa hemen bütün kateterlerin mikroorganizmalarla kolonize olduğu gösterilmiştir.

c- Katetere ait faktörler: Yüzey yükü, trombojenisitesi ve polimer tipi.

Önemli kateter kolonizasyonu; distal kateter segmentinin semikantitatif kültüründe, 15'den fazla koloni veya kantitatif kültüründe 1000'den fazla koloni tespit edilmesi olarak tanımlanır(Maki DG ve ark, 1977; Canaud B, 1999).

1.7. *Escherichia coli*

Üropatojenik *E. coli* (UPEC) İdrar yolu infeksiyonlarının %90'ının nedenidir (Todar, 2008). Bu *E. coli* tipleri idrar yolu epitel hücrelerine özellikle bağlanabilen fibriümlara sahiptir. Kadınların üretrasının erkeklerinkinden daha kısa olması nedeniyle bu infeksiyon kadınlarda daha sıkça görülür. Dışkıdan gelen bakteri genelde cinsel ilişki sonucu idrar yoluna girer, bakteriler üretrayı tırmanıp mesaneye ulaşırlar. Mesane infeksiyonuna sistit denir, tedavi edilmediğinde böbrek iltihabına (pyelonefrit) dönüşebilir.

1.7.1 Virölans faktörleri

E. coli türü içinde büyük bir çeşitlilik vardır, hatta modern tekniklerle gösterilmiştir ki *Shigella* ve *Salmonella* familyasının üyeleri aslında *E. coli*'nin alt-tipleridir. *E. coli* türü içinde farklı özelliklere sahip olan, "suş" olarak adlandırılan çeşitli tipler vardır. Bunları birbirinden farklı kılan küçük mutasyonlar olabileceği gibi bütün bir genin, hata pek çok genin, varlığı veya yokluğu, olabilir. Suşları farklı kılan genler arasında toksin ve yapışma (adezyon) faktörleri gibi hastalık (virulans) faktörleri vardır. Örneğin O157:H7 suşunun taşıdığı Şiga toksini geni, *E. coli* 'ye *Shigelle*'dan geçmiştir. Aşağıda *E. coli*'nin hastalık yapmasını sağlayan özelliklerin bazıları sıralanmıştır. Bunların hepsi bir arada olmaz, belli *E. coli* suşları bu faktörlerin belli kombinasyonlarına sahiptir.

Pilus veya fimbriumlar bakterinin üstünde bulunan ve onun belli yüzeylere bağlanabilmesini sağlayan saç görünümlü yapılardır. Zararsız *E. coli* 'ler de piluslara sahip olmakla beraber *Enterotoksin E. coli* (ETEC) tiplerinde bulunan özelleşmiş piluslar, onların ince bağırsak epitel hücrelerine bağlanmalarını sağlar. Bu sayede bakteri dışkıyla atılmayıp ince bağırsakta yerleşir ve orada çoğalabilir. Bu yüzden bu pilus türlerine kolonileşme faktörü denir. Bu faktörler konak organizmaya özgün olup bakterinin hangi hayvanlarda çoğalabileceğini belirler. Başka tip piluslar idrar yolu hücrelerine veya mesane hücrelerine bağlanmayı sağlarlar, bu yüzden idrar yolu infeksiyonlarına yol açarlar.

Ekzotoksinler

Kapsül, hücrenin dışında ek bir koruyucu tabakadır, vücudun koruma mekanizmalarının bakteriyi tanımasını ve imha etmesini engeller.

Hemolizin, alyuvarların parçalanmasını sağlar, salınan demir bakteri için bir besin kaynağıdır.

Siderofinler, (aerobaktin ve enterokelin) kandaki demiri toplamaya yarar. Kanamalı ishalde ve sistemik infeksiyonlarda bakterinin büyümek için ihtiyaç duyduğu demiri sağlar.

KL antijeni, bakterinin fagositozuna engel olur.

Endotoksin, hücre zarında bulunan bir glikolipittir, vücudun ona karşı gösterdiği kuvvetli tepki enflamasyonda önemli rol oynar.

Laboratuvarda kullanılan standart *E. coli* suşunun adı K12'dir. *E. coli* K12'nin ve O157:H7 serotipli bir suşun genom dizinleri çözülmüştür. K12 genomu yaklaşık 4200 genden oluşmaktadır, O157:H7 genomu ise K12'ninkiden %25 daha büyük. K12 suşu hastalık yapan bir faktör taşımaz ve hatta K12'nin ilk izolasyonundan günümüze geçen yıllar zarfında kapsül yapma yeteneğini kaybederek laboratuvar ortamına uyum sağlamış, artık doğal ortamında (yani insan bağırsağında) başka *E. coli* türleriyle rekabet edemeyecek kadar zayıflamıştır.

Escherichia coli, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında hem en sık izole edilen, hem de hemen her organ ve dokuda infeksiyon oluşturabilen bir bakteridir. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık kabul edilen ekim materyali ise idrardır. İYİ hem hastane, hem de hastane dışında en sık karşılaşılan infeksiyonlardan biridir (Johnson, 1991; NNIS Report, 1996; Aksaray S ve ark, 2000). İYİ'de en sık izole edilen mikroorganizmalar, *E.coli* yanı sıra diğer enterik bakteriler ve bazı Gram pozitif suşlardır. Dolayısıyla İYİ etkeni olan *E.coli* suşları ile günlük uygulamalarda oldukça sık karşılaşmaktadır.

1.8. Biyofilm Tabakası

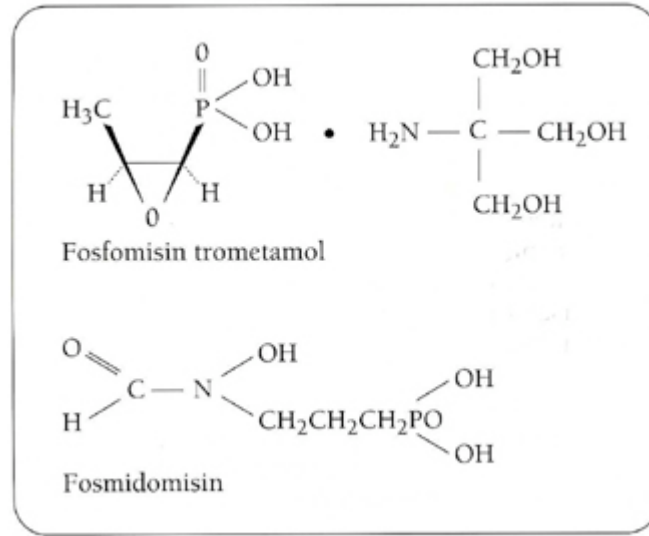
Kateterle ilişkili bakteriyemiler yüksek oranda mortalite ve komplikasyon riski taşır. Enfeksiyonlar kateter kayıplarının en önemli nedenidir. Bakteriyemi, ya bakterinin kateter dış yüz boyunca migrasyonu ile veya kateter lümeninin kontaminasyonu ile ortaya çıkar. Bakteriyemi için en önemli risk faktörleri kateterizasyon süresi ve kateter lokalizasyonudur.

Stent üzerindeki kolonizasyon bazı fiziksel, mikrobiyolojik ve biyokimyasal temellere dayandırılmaktadır. Bakteriler; planktonik ve biyofilm büyüme tarzında kolonize olurlar. Katı bir yüzeyde oluşan biyofilm mikroorganizmaların kendisi ve ekstraselüler üretimlerinin bir birikimi sonucu oluşur. (Costerton ve ark.,1987) Biyofilm tabakası üç aşamada oluşmaktadır:

- 1- Fibronektin ve fibrinojeni içeren birkaç protein bakterilere çapalanma tarzında bağlanır.
- 2- Fibronektin bağlayıcı proteinin salgılanması ve diğer adezyon molekülleri yoluyla bakteriyel adezyon meydana gelir
- 3- Başarılı bir adezyondan sonra, bakteriyel büyüme dereceli olarak biyofilm oluşmasına yol açar (Tenke ve ark., 2004).

1.9. Fosfomisin

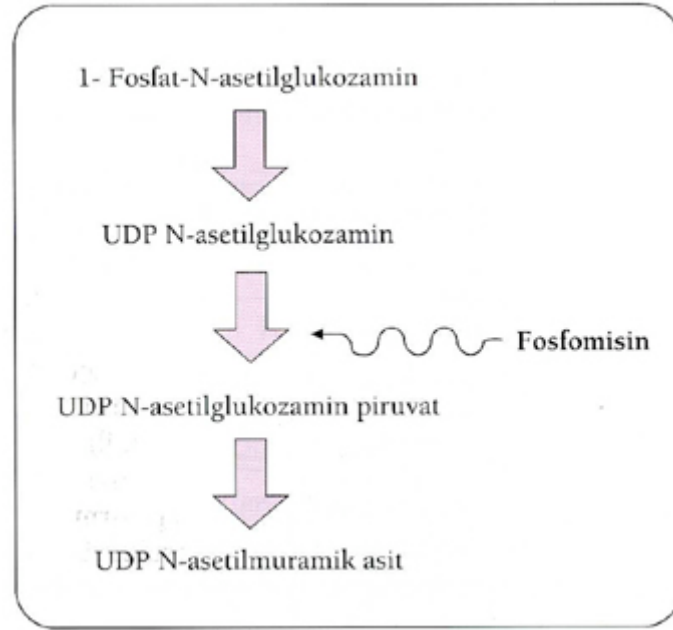
Fosfonik asit türevi olan fosfomisin idrar yolu infeksiyonlarının tedavisi için kullanılan geniş spektrumlu ürospesifik bir antibiyotiktir. Fosfomisin ilk olarak 1969'da İspanya'da bulundu. İlk bulunduğu menenjit dahil bir çok ciddi infeksiyonun tedavisinde sadece parenteral olarak kullanılabilmekte idi.1980'li yılların başında fosfomisin trometamol olarak bilinen ve oral uygulanabilen ve suda çok iyi çözünebilen fosfomisinin tuzu elde edildi (Reeves, 1992),



Şekil 1.1. Fosfomisinin kimyasal formülü (Patel S.S. ve ark. 1997; Gutierrez ve ark. 2008)

Üriner sistem infeksiyonlarından sıklıkla sorumlu olan Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı fosfomisinin geniş antibakteriyel etki spektrumu vardır. *E.coli*, *Enterobacter* türleri, *Citrobacter* türleri, *Klebsiella* türleri, *Proteus* türleri, *Staphylococcus* türleri (metisiline dirençli türleri dahil) ve *streptokoklara* karşı etkili olduğu ispatlanmıştır.

Fosfomisin antibakteriyel etkinliğini, bakteri hücre duvarı sentezini ilk basamakta engelleyerek gösterir. Fosfomisin piruvil transferazı inhibe ederek etkisini gösterir. Piruvil transferaz sitoplazmik bir enzimdir ve peptidoglikan sentezinin ilk basamağını katalizler. Peptidoglikan yapısı Gram (+) ve Gram (-) bakteri hücre duvarında bulunurken, insan yapısında mevcut değildir. Fosfomisin peptidoglikan oluşumunu engelleyerek hücre duvar sentezinin ilk basamağını baskılayan tek bakterisidal ajandır.

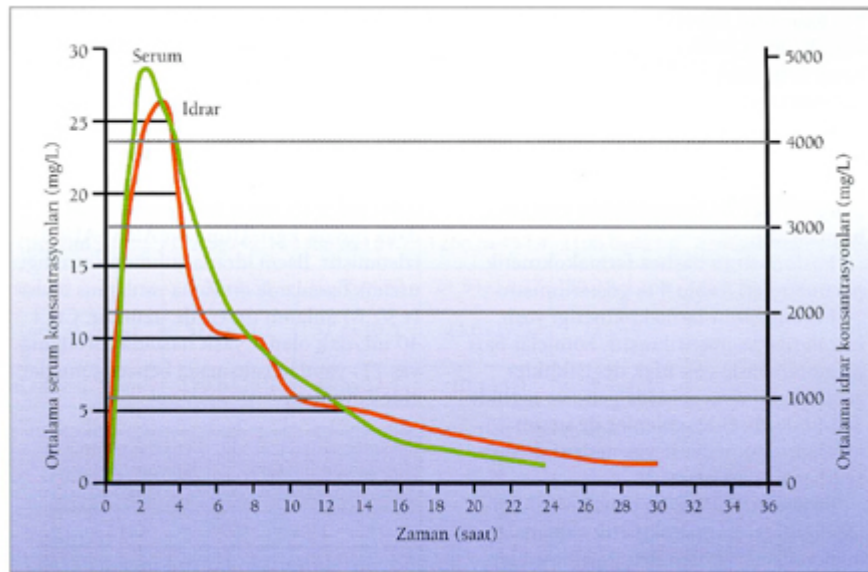


Şekil 1.2. Bakteri hücre duvar biyosentezinin basitleştirilmiş ilk basamağı. UDP: Uridin difosfat (Minassian M.A. ve Williams J.D.,1995)

Fosfomisin üriner sistem infeksiyonlarının *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ve *Klebsiella* türleri gibi en sık karşılaşılan etyolojik ajanlarına karşı MİK değerlerine yakın konsantrasyonlarda hızlı bakterisidal etkilidir (Careddu ve ark, 1987; Palmieri, 1988; Ferraro ve ark, 1990; Principi ve ark, 1990; Crochiolo, 1990; Cortes ve ark, 1992;).

Diğer test edilen ve sık karşılaşılan üriner patojenlere karşı fosfomisinin bakterisidal konsantrasyonu MİK değerlerine eşit veya daha büyüktü (2 katına kadar). *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı bakterisidal etkinin MİK değerlerinin yarısındaki konsantrasyonlarda gerçekleştiği gösterilmiştir.

Fosfomisin vücutta karaciğerlerde metabolize olmadan direk idrarda ve mesanede yüksek konsantrasyonlara ulaşarak etki eder. Fosfomisin sistemik etkili bir antibiyotik değildir.



Şekil 1.3. 3 g fosfomisine eşdeğer oral tek doz fosfomisin trometamol uygulamasından sonra idrar ve serumdaki ortalama fosfomisin konsantrasyonları (Bergan T ve ark., 1993)

Fosfomisin plazma proteinlerine bağlanmaz. Fosfomisin vücutta metabolize olmamaktadır. Dozun yaklaşık % 18-28' i enterohepatik döngüye uğrayarak feçes ile atılır. Fosfomisin çok yüksek idrar konsantrasyonları oluşturacak şekilde başlıca böbreklerle atılır.

Çizelge 1.2. 3 g fosfomisine eşdeğer oral tek doz fosfomisin trometamol uygulamasından sonra değişik zaman noktalarında ortalama idrar konsantrasyonları (Bergan T ve ark., 1993)

Uygulamadan sonraki zaman noktası (saat)	Ortalama idrar konsantrasyonu (mg/L)
2 - 4	4415
8 - 12	1006
16 - 24	484
36 - 48	50

(Bergan T. ve ark.23)

Oral uygulamadan sonra yüksek oranlarda ve etkili terapötik konsantrasyonlarda genito-üriner sistemin tüm bölümlerine dağılır. İdrarda

terapötik konsantrasyonlarda bulunur. İdrar ve mesanede 4 saat içerisinde maksimum konsantrasyonlara ulaşır ve gerekli MİK değerlerinin üzerinde mesanede oral tek doz ile 48 saat boyunca kalır.

Fosfomisin Gram (+) ve Gram (-) gibi ana üropatojenlerin hemen hemen tümüne etkili geniş spektrumlu bir ürospesifik antibiyotiktir. Bakterilerin üriner sistem epitelyal hücrelerine yapışabilme kabiliyeti üriner sistem infeksiyonlarının patogeneğinde anahtar faktördür. Yapışma, fimbrialar da yerleşik olan spesifik bakteriyel reseptörler ile epitel yüzeyinde var olan reseptörler arasındaki etkileşimden kaynaklanır. Hücre yüzeyine yapışabilme, bakteriye idrar akımına karşı koyabilme, mesane yüzeyinde birikebilme ve dokulara girebilmeyi sağlar. Bu nedenle antibiyotiğin bakterinin yapışabilmesini etkileyebilirlik kapasitesi ilaç tedavisinin seçiminde anahtar faktör olabilir. Fosfomisin test edilen hem Gram (+) hem de Gram (-) bakteri türlerinin üroepitelyal hücrelere yapışabilmesini azaltabildiği tespit edilmiştir. Üstelik bu etki inhibitör konsantrasyonların (sub-inhibitör) altında da gözlenmiştir. Fosfomisin, çoğu kez MİK değerlerinin 1/4 ve 1/8'ine karşılık gelen sub-inhibitör konsantrasyonlarda, hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilerin yapışabilme özelliklerini baskılama da çok etkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 1.3. Fosfomisin trometamolün etkinliği (Neu HC, Williams JD - 1988)

Mikroorganizm		MİK 50 (µg/mL)
Escherichia coli		0.5
Klebsiella türleri		32
Proteus mirabilis		8
Proteus indol (+)		16
Enterobacter türleri		16
Pseudomonas türleri		32
Staphylococcus aureus	Metisilin duyarlı	2
	Metisilin dirençli	4
Enterococcus faecalis		64

Fosfomisin tablodaki ana üropatojenlere tek doz ile etkili güçlü bir antibiyotiktir. Bu çalışma haricinde de Fosfomisinin *Streptococcus* türlerine,

Citrobacter türlerine ve *Serratia* türlerine etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca B-laktamaz üreten suşlara karşı da etkinlik azalmamıştır.

Yapılan *in vitro* çalışmalar fosfomisin 30 dakika içinde duyarlı bakterilerde lizise neden olarak bakterisidal etki yaptığını göstermiştir. Ayrıca fosfomisin bakterinin üriner sistem epiteline yapışmasını engelleyerek antiadheziv etki gösterir. Trometamol oral kullanım sonrasındaki fosfomisin biyoyararlanımını artırmaktadır. Trometamol ne antibakteriyel etkinliği ne de fosfomisin etkinliğini değiştirmemektedir.

Genellikle üriner sistem girişimlerini takiben hastalara idrar kateteri takılmaktadır, bu da uygulanan antibiyotiğin mesane konsantrasyonlarını azaltabilmekte ve infeksiyon için zemin hazırlayabilmektedir. Bunu önleme amacıyla fosfomisin kullanımı yoktur. Fosfomisin antiseptik bir madde değildir. Ancak yapılan çalışmalar antiadheziv etkinliği sayesinde üropatojenlerin idrar kateterine yapışabilmesini de % 50 oranında azalttığını göstermiştir. (Barry A L ve Fuchs P C,1991)

Fosfomisin biyofilm tabakalarına da geçerek mikroorganizmalar üzerinde etkinliğini sürdürebilmektedir. Antiadheziv etki üropatojenlerin üriner sistem epiteline yapışarak kalmasını ve dolayısı ile kolonizasyonunu engellemekte, böylece antibakteriyel etkinliği daha güçlü kılmaktadır. Fosfomisin etki spektrumunda olmayan ve üriner sistemde etkili olan patojenler üzerinde de antiadheziv etki göstererek, patojene spesifik antibiyotik tedavisinin başarısına katkıda bulunur.

Bu nedenle tedavide kullanılacak ajanın antiadheziv özelliğinin de bulunması seçimde önemli bir kriter olabilir. Adhezyonu etkilediği en iyi bilinen faktör fimbriyalardır. Fosfomisin fimbriaların sentez ve hareket edebilmelerini azaltmaktadır. Fosfomisin hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteri türlerinin üroepitelyal hücrelere yapışabilmesini azaltır. Fosfomisin etkisini

artırmak için aynı endikasyonda kullanılan diğer maddelerin aksine idrarın asitleştirilmesi için özel bir ilaç ya da diyet uygulanması gerekmez.

Ancak *in vitro* çalışmalar asit ortamda etkinliğinin arttığını göstermektedir. 3 gram oral tek doz sonrasında elde edilen konsantrasyonlar *in vitro* ortamda 80 saat boyunca üropatojenler için gereken MİK değerlerinin üzerinde kalmaktadır. (Gelfand M ve Johnson R, 1997)

Fosfomisin'in neden olduğu lizis diğer ajanlarda olduğu gibi konsantrasyona bağlı değildir, birçok beta laktamda MİK değerlerinin yakınında veya tam üstündeki konsantrasyonlar büyümeye ve uzamaya devam eden bakteride septasyonu önlerken, aynı düzeylerdeki fosfomisin hızla lizise neden olur. Fosfomisin'in yüksek konsantrasyonlarda olması sonucunda hem daha uzun süreli etki sağlanabilmekte hem de direnç gelişme ihtimali azaltılabilmektedir. Fosfomisin'in düşük konsantrasyonlarda dahi hızlı bakterisidal etkinliği olduğu gösterilmiştir.

İdrar yolu infeksiyonlarında tercih edilen antibiyotikler içinde fosfomisin en düşük direnç oranına sahiptir. (% 0,4) Çok yaygın olarak kullanılan ilaçlara karşı genellikle yüksek seviyede direnç bulunmaktadır. Kinolonların, trimetoprim grubunun ve ampisilin grubunun aşırı kullanımı bu ajanlara karşı artmış bir dirence neden olmuştur. İlginç olarak diğer ajanlar gibi fosfomisin'de yaygın olarak kullanılmasına karşın direnç sıklığı düşüktür.

Dirençin düşük olmasını açıklayan birkaç teori bulunmaktadır. Bir çok izolata karşı fosfomisin'in yüksek orandaki etkinliği ve diğer ajanlar ile arasında çapraz direnç olmaması, fosfomisin'in yalnızca üriner sistem infeksiyonunun tedavisinde kullanılması veya etki mekanizmasının diğer antimikrobiyal ajanlardan tamamen farklı olması ile açıklanabilir. Dirençin genetik prensipte yayılımı açısından bakıldığında, fosfomisin'e karşı düşük orandaki dirençin sebebi, fosfomisin'e plazmid aracılı direnç difüzyon oranının düşük olmasıdır.

Bu ajanın sık kullanılması ile düşük direnç oranları arasındaki zıtlık fosfomisin'e dirençli bakterinin patojenitesini kaybetmesi ile de açıklanabilir. Fosfomisin'in düşük inhibitör konsantrasyonlarında bu tür mikroorganizmaların büyümesi zayıflar. Fosfomisin trometamol tedavisi tek dozdan oluşmaktadır. Pratikte hastanın tedaviyi yarım bırakması söz konusu değildir.

Direncin bu derece düşük olmasını açıklayan bir başka teori fosfomisin molekülünün diğer antibiyotiklerden farklı olarak veterinerlikte henüz kullanılmamasıdır. Hayvanlarda kullanım sonucunda gelişebilecek antibiyotik direnci söz konusu değildir.

Fosfomisin'in düşük inhibitör konsantrasyonlarında, *E. coli*'nin plazmid transferi yapabilme ve patojenisite ile ilgili enzimleri sentezleme yeteneği zayıflar.

Fosfomisinin farmakokinetik özellikleri (plazma proteinlerine bağlanmaması, vücutta her hangi bir dokuda uzun süreli olarak birikmemesi, yarılanma ömrünün yaklaşık 5.7 saat oluşu vb) nedeni ile kronik toksisite bildirilmemiştir.

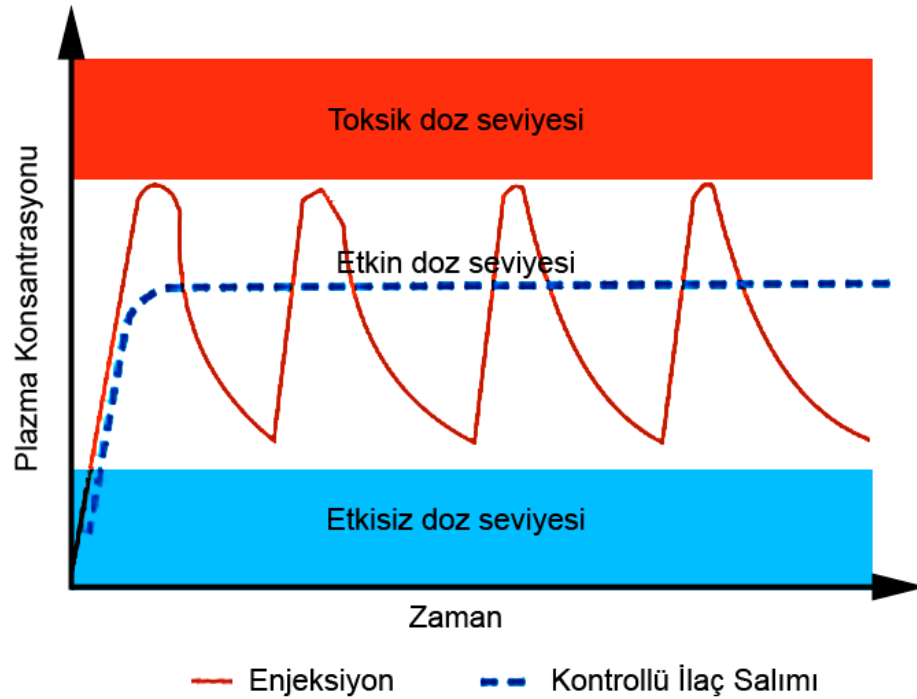
Diğer antibiyotik ve antiseptik özellikli kimyasal maddeler ile karşılaştırdığımızda fosfomisin'in ürospesifik olması, düşük MİK değerlerinde yüksek antibakteriyel etkinlik göstermesi, düşük yan etki, gebelikte güvenirliliği ve diğer özellikleri nedeniyle bu çalışmada aktif madde olarak seçilmiştir.

1.10. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Kontrollü ilaç salım sistemi biyolojiden kimyaya, nanoteknolojiden biyomühendisliğe kadar geniş disiplinlerin insan sağlığı için katkı koydukları

hızla gelişen bir araştırma alanıdır. Kontrollü salım sistemlerinde, konvansiyonel dozaj formlarında yaşanan ilaç etkinliği ve doz aşımı gibi sorunlar aşılmaktadır. Bu tip sistemlerde sıklıkla ilaç taşıyıcısı matriks olarak sentetik polimerler kullanılmaktadır. İlaç taşınım ve kontrollü salım sistemlerinin ortaya çıkışı 70'li yılların ortalarında olmuştur. 25 sene içerisindeki gelişimle 2000'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık 20 milyar dolar gibi bir satış rakamına sahiptir.

Bütün kontrollü salım sistemlerinin hedefi ilaç tedavisinin etkinliğini arttırmaktır (Langer, 1998). Yan etkilere maruz bırakmadan ilaç aktivitesinin artırımı, ilacın doz tekrarında özel uygulama metotlarına gereksinim duyulmaması (injeksiyon tekrarı) ilaç tedavisinin etkinliğini artırıcı etkenler olarak sayılabilir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Konvansiyonel enjeksiyon ve kontrollü ilaç salım sistemiyle yapılan uygulamalarda ilacın zamanla plazmadaki konsantrasyonlarının gösterimi.

İlaç injeksiyon ile uygulandığı zaman 24 saatlik zaman periyodunda ilaç konsantrasyonun profili çok dalgalı olmaktadır. Bu dalgalanma profilinde, yalnızca bir kısım zaman aralığında konsantrasyon istenilen tedavi edici sınırlar aralığında (yan etki olmadan yarar sağlanan aralık) kalmaktadır. Kontrollü salım sistemleri ile ilaç salımı ile ilaç yıkımı oranı sabit kalıp ilaç konsantrasyonu istenilen aralıkta sabit tutulmaktadır. Örnek olarak ağrı çeken bir hastaya verilen ağrı kesicinin konsantrasyonu tedavi edici sınırın altına düşerse hasta ağrıyı hisseder. Kontrollü ilaç salım sistemlerinde ilaçtan alınabilecek maksimum olası yarar sağlanarak, konvansiyonel dozun dezavantajlarının önüne geçilmiş olur (Power I, McCormack J., 2007).

1.10.1. Polimer Kullanılan Kontrol Salım Sistemlerinin Mekanizmaları

Polimer kullanılmış salım sistemleri için pek çok mekanizma geliştirilmiştir. Mekanizmalardaki çeşitlilik kullanılan sistem ve ilaç çeşitliliğinin sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Örnek verecek olursak, hastanın midesinde, oldukça asidik ve de çevresel etkenlere göre sürekli değişebilecek koşullarda etki gösterecek bir ilaç için kontrollü salım gerekebilir; ancak bu sistem ile hastanın direkt olarak pH'sı nötre yakın olan ve pulsatif bir dinamizme sahip olan dolaşım sistemine etki edecek olan sistemin mekanizması şüphesiz ki çok farklı olacaktır. Kullanılacak polimerlerin ilaç tedavisi veya ilaç miktarı sona erdikten sonraki akıbetleri, kullanım mekanizması açısından çok önemlidir ve daha çok vücut tarafından emilebilen ya da kolay atılabilen doğal kaynaklı polimerler ilgi görmüştür (Langer 1995). Dışarı atılım direkt olarak böbreklerden ya da vücutta biyobozunum sonrası daha küçük moleküllerin atılımı şeklinde gerçekleşebilir. Biyolojik olarak bozunmayan polimerlerin seçimi ile bir kontrollü salım sistemi de tedavi bittikten sonra taşıyıcı matriksin implant edilen bölgeden çıkarılması yolu ile planlanabilir ya da oral yolla alınan bir taşıyıcının gastrointestinal yoldan atılımı sağlanabilir.

1.10.2. Geçici Kontrollü Sistemler

Birçok ilaç etkinlik göstereceği reseptörler ile etkileşmeden önce hastanın uygun bir sulu ortamında çözünme gereği duyar. Geçici kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerik cihazlarda ilaç molekülü bu ortamlardan izole bir şekilde korunur. Böylelikle ilaç moleküllerinin çözünmesi geciktirilerek dozaj uygulama tekrarı olmaksızın tedavi edici sınırlar içerisinde konsantrasyonunun sabit kalması sağlanabilir (Jantzen ve Robinson 1996). İlaç çözünmesinin kontrol altında tutulması kullanılan polimerik materyalin ilaçtan daha düşük bir hız ile çözünmesi ile gerçekleştirilebilir.

Difüzyon kontrollü salımda, ilacın sulu ortamda çözünmesi, suda çözünmeyen bir polimerik membran içerisinde tutularak inhibe edilmiştir. Bu sistemde ilaç molekülleri bu kıvrımlı polimerik zincirler arasından sıyrılarak salım ortamına geçmek zorundadır. Salımı hızlandırma amacıyla hidrojellerin suda şişebilme yeteneklerinin artırılmasından faydalanılabilir. Ayrıca hidrojellerin biyoadesif özelliklerinden faydalanılarak istenilen bölgede daha uzun zaman kalması sağlanabilir.

İlaç difüzyonunu kontrol eden polimerik sistemler bazen bu işlevleri yarı geçirgen bir zar ile osmotik basınç kontrollü olarak yaparlar. Dışarıdaki basınç düştükçe ortaya çıkan gradyandan ötürü içeride çözünmüş olan ilacın zardan geçerek ortama salınması da sık kullanılan kontrollü salım sistemlerine örnektir. Geçici kontrollü salım sistemlerinde kullanılan bir diğer yöntem de ilacın sadece vücut tarafından ihtiyaç duyulduğu zaman da pulsatif bir şekilde ortama salınmasıdır (Siegel,1997). Bu alandaki çalışmalarda en çok efor diyabet hastaları için insülin salan salım sistemleri dizaynında sarfedilmektedir. Hastaların insülin ihtiyaçları günlük diyetlerine ve dolayısıyla kandaki glikoz oranına bağlı olarak değişmektedir. Kronik insülin tedavisinde hasta rutin bir şekilde insülin dozajına bağlı kaldığından aldığı glikoz miktarına dikkat etmelidir. Kontrollü ilaç salım sistemlerinde yapılacak devrimsel bir değişim ile insülinin sadece glikoz seviyesinin artışında vücuda verilmesine çalışılmaktadır.

1.10.3. Dağılım Kontrollü Salım Sistemleri

Dağılım kontrollü bir sistem elde etmenin en basit yolu taşıyıcı cihazı direkt olarak ihtiyaç olan bölgeye implant etmektir. Carmustine ihtiva eden polianhidrit diskleri cerrahi operasyonla alınmış kötü huylu urların operasyonla alınmasından sonra oluşan kavitelere yerleştirilip ve bu sistem yeniden oluşabilecek tümörlere karşın %90'a varan etkinlik gösterilmiştir. Pek çok dağılım kontrollü ilaç salım sisteminde ise ilaçların istenilen etkinliği gösterebilmesi ve herhangi bir yan etkiye sebep olmaması için bir hedefleme işlemine tabi tutulması gerekmektedir(Domb ve ark. 1994). Bu tip sistemlerde kullanılan polimerler koloidal taşıyıcılar ve polimer-ilaç taşıyıcıları olmak üzere iki ayrı formda kullanılmaktadırlar. Koloidal formülasyonlarda polimer, ilacı mikro ya da nano parçacıklar olarak enkapsüle eder. Polimer-ilaç konjugasyonlarında ise ilaç kovalent olarak polimere bağlıdır. Bu sistemlerde polimer sadece taşıyıcı matrikstir, hedeflendirmede herhangi bir görevi bulunmamaktadır. Immunoglobülinler, karbonhidratlar gibi reseptörler tarafından tanınabilen moleküller sıklıkla tanıyıcı olarak kullanılırlar.

1.11. Plazma

1.11.1. Plazma Polimerizasyonu

Plazma, maddenin yüksek enerjiye sahip dördüncü hali olarak kabul edilebilir. Plazma, yüksek sıcaklık, elektriksel ya da manyetik alan yardımıyla oluşturulabilir(Akman, 1993). Enerjisi artan moleküllerin ortaya çıkardığı serbest elektronlu türler ve radikaller enerjilerini diğer moleküllere ya da modifikasyona uğratılacak türün yüzeyine transfer ederek yeni türler, fonksiyonel gruplar oluştururlar ve/veya polimerleşirler.

Plazma polimerizasyon tekniği hemen hemen bütün türdeki maddelerin yüzey özelliklerini değiştirmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Maddenin yüksek enerjili plazma halinden faydalanılarak kullanılan bu teknikte güç kaynağı olarak, radyo frekansı, mikrodalga, ark kullanılabilir. Uygulama metodu olarak da düşük ya da yüksek sıcaklık plazmaları bulunmaktadır. Uygun parametreler ve işlenecek malzemeler birleştiğinde yüzeyde değiştirilebilecek özelliklerden bazıları, ıslanabilirlik, yüzey serbest enerjisi, geçirgenlik, sertlik, korozyona direnç ya da istenilen uygulamaya göre biyoyumluluk olarak sayılabilir (Inagaki ve ark. 1982; Tusek ve ark 2001).

Plazma destekli yüzey modifikasyonunun konvansiyonel yöntemlere göre en büyük üstünlüğü yüzey özelliği değişirken maddenin yığın yapısına etki etmemesidir. Yüzeyde oluşan, polimer birikmesi, oksitlenme, çapraz bağlanma gibi değişimler yığın yapıda gözükmez. Biyomedikal uygulamalarda elastikiyet ve sertlik önemli bir parametre iken, canlı ile temasta bulunan yüzeyin de biyoyumluluk açısından önemi vardır ve de yığın yapısından farklı olarak modifikasyona uğraması gerekebilir (Kaminska, ve ark., 2002).

Sunulan çalışma kapsamında kullanılan radyo frekans yük boşalım (RFGD) plazma yönteminin avantajları arasında çevre sağlığına zararlı etkisinin olmaması, tekrarlanabilirliği, pek çok kimyasal monomer ile uygulanabilirliği bulunmaktadır.

1.11.2. Plazma Polimerizasyonunun Mekanizması

Düşük basınçlı radyo frekansı yük boşalım plazmasında gerçekteşen reaksiyonlar 3 ana başlık altında sıralanabilir.

- (1) Yüzey reaksiyonları: Kullanılan malzemenin yüzeyi ile gaz olarak beslenen maddenin plazma hali arasında gerçekteşen reaksiyonları kapsar. İlk olarak yüzeyde oluşan fonksiyonel gruplar reaksiyon süresi

uzadıkça çapraz bağlı kompleks yapılara doğru değişim gösterirler. Argon, amonyak, karbon monoksit, karbon dioksit, flor, hidrojen, azot, su ve oksijen gazı kullanılan plazmalar bu reaksiyon tiplerine örnektir (Tusek ve ark., 2001).

(2) Plazma polimerizasyonu: Kullanılacak herhangi bir organik monomerin modifiye edilecek yüzeyde ince tabaka şeklinde polimerleşmesiyle oluşur. Mekanizması tam olarak aydınlatılamasa da, ortamda bulunan yüksek enerjili iyon, serbest radikal gibi reaktif grupların polimerizasyonda etkin oldukları bilinmektedir.

(3) Temizleme ve aşındırma: Genellikle oksijenin oksitleme yeteneğinden faydalanılarak yapılan bu plazmalarda yüzeydeki kirlilikler ya da aşınmaya açık bölgeler kimyasal ya da fiziksel kırılımlarla uzaklaştırılır.

1.11.3. Biyomedikal Uygulamalarda Plazma Destekli Yüzey Modifikasyonu

Günümüzde kullanılan pek çok biyomalzeme kullanıldıkları uygulama için gerekli fiziksel kriterleri sağlasa da, yüzeylerinin canlı sistemle temasında doğabilecek sorunlar sonrasında; enfeksiyon, enflamasyon, tromboz oluşumu gibi ciddi yan etkiler gösterebilirler. Yüzey modifikasyonu ile biyomalzemenin yığın yapısındaki fiziksel ve kimyasal parametreleri değiştirmeden bu yan etkiler aşılabilir (Akdoğan ve ark, 2005).

1.11.3.1 Biyoayırma

Seçici geçirgenlik özelliğine sahip polimerik membranlar hemodiyaliz, protein saflaştırma ve biyosensör uygulamaları gibi alanlarda kullanılmaktadır. Kullanılan membran ne kadar seçici olursa etkinliği o kadar fazla olur. Yüksek seçicilik kimyasal grupların membrana eklenmesi ya da por çapının fiziki olarak kontrol edilmesi ile artırılabilir.

1.11.3.2 Sterilizasyon

Plazma destekli yüzey modifikasyonunun sağladığı avantajlardan biri de modifikasyon esnasında aynı zamanda sterilizasyon yapmasıdır. Sıcaklık, radyasyon ve kimyasal sterilizasyonlara duyarlı olan malzemelerde plazma reaktör içi sterilizasyon yapmak uygun olabilir.

1.11.3.3 Oküler Protezler

Plazma destekli yüzey modifikasyonuna tabi tutulmuş kontakt lens ve intraoküler lensler uygulama esnasında protein ve hücre itici özellik kazanabilirler. Ayrıca yüzeylerde yaratılacak hidrofilik gruplar ile ekstra ıslanabilirlik yaratılarak hasta konforu da sağlanabilir.

1.11.3.4. Ortopedik Uygulamalar

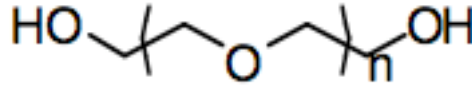
Ortopedik uygulamalarda kullanılan metal implantlar, hücre yapışma ve çoğalmasını artırıcı ya da kemik çimentosu ile daha iyi harmanlanabilmesi yönünde yüzey modifikasyonuna tabi tutulurlar. Biyobozunabilen malzemelerin ortopedik uygulamalarda kullanımı esnasında malzemenin uygulamadaki degradasyon profilini düzenlemek amacıyla dış yüzey plazma polimerizasyon işlemine de maruz bırakılabilir.

1.11.3.5 Doku Kültürü Uygulamaları

Petri kapları, kültür şişeleri gibi hücre kültür malzemeleri de hücre yapışma ve çoğalması yönünde yüzeyin serbest enerjisinin değiştirilmesi ile modifikasyona uğratılabilir.

1.12. Poli(etilen glikol) (PEG)

Polieter türleri arasında polietilen oksit olarak da bilinen ve formülü $\text{HO}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{H}$ olan poli(etilen glikol) (PEG) en önemli ticari ürünlerdendir (Şekil 1.5). PEG etilen oksitin polimerizasyonu ile elde edilir ve 300 g/mol ile 10.000.000 g/mol arasında değişen molekül ağırlığına sahip ticari formları bulunmaktadır. Zincir uzunluğu etkisine bağlı olarak fiziksel özellikleri (örn. viskozite) değişmektedir ve kimyasal özellikleri benzer niteliktedir. Değişen molekül ağırlıkları ve özellikleriyle PEG birçok farklı uygulamada kullanılmaktadır.



Şekil 1.5. Poli(etilen glikol)'ün kimyasal yapısı

1.13. Laboratuvar Tetkikleri

1.13.1. İdrar Kültürü

Üriner sistem enfeksiyonunun teşhisi kültür ile de yapılabilir. Mesanedeki idrar normalde sterildir. Enfeksiyonu olan hastaların mesanesinde genellikle ml'de

en az 10^5 bakteri bulunur. Semptomatik alt üriner sistem infeksiyonu olan kadınların yaklaşık 1/3'ünde idrarda ml'de 10^5 den fazla bakteri olduğunu hatırlamak önemlidir.

Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Konseyi sistit'i ml'de 10^3 veya daha fazla CFU (Colony Forming Unite) (duyarlılık % 80, özgüllük % 90), piyelonefrit'i ml'de 10^4 veya daha fazla CFU (duyarlılık % 90, özgüllük %95) olarak tanımlamaktadır.

Asemptomatik kadınlardan temiz yöntemlerle alınmış orta idrar örneğinde eğer ml'de 10^5 ten fazla bakteri varsa % 80 ihtimal ile gerçek bir bakteriüri vardır. İki farklı örnekte ml'de en az 10^5 ten fazla aynı bakteri olursa olasılık % 95'e çıkar. Akut tek üriner sistem infeksiyon atağı olan olguların % 80'den fazlasında *E. coli* en sık etyolojik ajandır. Üriner sistemde anomalisi olan veya hastaneye yatırılan olgularda *E. coli* gene en sık etkindir. Bunu *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri izler.

İdrar örneği alındıktan sonra en fazla yarım saat içinde kültür yapılmalı, yapılamıyorsa idrar hemen bozdolabına konmalı ve en fazla 24 saat bekletilmelidir.

Aseptik şartlarda alınan numuneler eozin metilen mavisi (EMB) agar ve % 5'lik koyun kanlı agar besiyerine standart öze ile ekilir ve 37°C'de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyon süresinin sonunda üreyen bakteri koloni sayısı 100 ile çarpılarak ml'deki bakteri sayısı hesaplanır. Üç ve üçten fazla koloni morfolojisi gösteren ekimler kontaminasyon olarak değerlendirilir.

EMB besiyerinde siyah-yeşil metalik refle veren suşlar üç şekerli demir (TSI), indol, metil kırmızısı, sitrat besiyerine ekilir ve TSI'da laktoz, indol ve metil kırmızısı reaksiyonları olumlu ve sitrat olumsuz izolatlar *E.coli* olarak tanımlanır. Yüzbin/ml ve üzerinde koloni sayısı veren suşlar İYİ ya da asemptomatik bakteriüri etkeni olarak değerlendirilir.

1.13.2. Kateterlerin Mikrobiyolojik İncelenmesi

a- Semikantitatif kateter ucu kültür yöntemi;

Kateterin ciltten çıkış yeri alkolle silinir ve kateter steril bir forseps kullanılarak çıkarılır. Kateterin ucundan itibaren 5cm'lik bir parçası kesilerek steril bir tüp içine konur. Bu parça laboratuvarda % 5'lik koyun kanlı agarı içeren katı besiyeri üzerinde çevrilerek dolaştırılır. İnkübasyondan sonra plaktaki koloniler sayılır, plakta 15 veya daha fazla koloni üremesi pozitif kabul edilir (Maki ve ark, 1977). Bu teknik eksternal kolonizasyonu gösterdiği halde lümendeki kolonizasyonu göstermede yetersizdir. Geçici kateter enfeksiyonlarında çok faydalı olan bu tekniğin kalıcı kateter enfeksiyonlarında yararı azdır. Çünkü bunlarda luminal kolonizasyon hakimdir (Maki ve ark, 1977).

b- Kantitatif kültür yöntemi: Kateter ucu sıvı buyyon besiyerine daldırılmalıdır. Sonikasyon, vorteksleme ve santrifüj gibi tekniklerle lümen içindeki mikroorganizmaların izolasyonu artırılabilir. Cleri ve arkadaşları (1980) tarafından tarif edilen yöntemle 1000'in üzerinde koloni tespit edilmesi önemli kateter kolonizasyonunu gösterir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Malzemeler

Çalışmalarda standart kateter olarak kullanılan poliüretan bazlı 7 fr ebadındaki double-j stentler Surgimedik (Hindistan) firmasından temin edilmiştir.

Üreteral stentlerin daldırma yöntemi ile kaplanması işleminde kullanılan poli(DL-laktid-ko-glikolit) (PLGA) polimeri (laktid, glikolit 50:50, MW: 40 000-75000) Sigma (ABD) firmasından temin edilmiştir. Stentlerin plazma polimerizasyon yöntemi ile kaplanması çalışmalarında kullanılan polietilen glikol (PEG, MW=400g/mol) Acros (Belçika) firmasından temin edilmiştir. Kaplama çözeltilerinin hazırlanması ve kateterlerin yüzeylerinin temizlenmesi işlemlerinde kullanılan etil asetat (HPLC uygulamasına uygun saflıkta) DOP (Ankara) firmasından temin edilmiştir.

Çalışmada ilaç salımı için model olarak seçilen fosfomisin trometamol (Zambon, Italya) etken maddesinin tedarik ve saklama koşulları aşamasında etkinliğini yitirdiğinin *in vitro* testlerde anlaşılması sonucunda etken madde çalışmaları trometamol yan grubu yerine sodyum bulunduran formu olan fosfomisin disodyum tuzu (Sigma, ABD) üzerinden gerçekleştirilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Fosfomisin Yüklü Double-J Stentlerin Hazırlanması

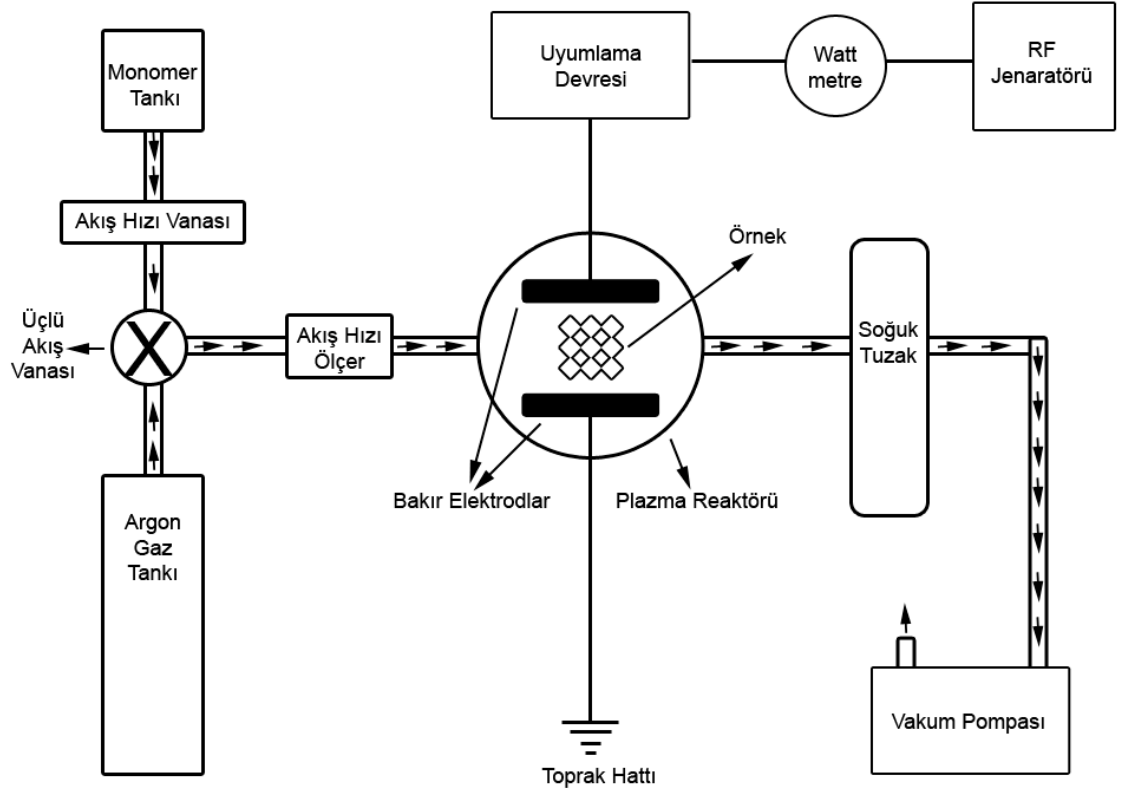
Double - J stentlerin yüzeylerinin kaplanması ve içerisine fosfomisin etken maddesininin yüklenmesi amacıyla poli(laktid-ko-glikolit) polimeri kullanılarak

biyouyumluluğu arttırılmış, porozitesi azaltılmış, farklı yüzey ve yığın yapısına sahip kaplamalar elde etmek üzere değişik formülasyonlar uygulanmıştır.

Standart poliüretan stentler 10 dk etil asetat içerisinde bekletilerek kirlilik ve organik safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Stentler kurutularak 100 mg poli(laktid-ko-glikolit) içeren 5 mL etil asetat çözeltisine daldırılmış ve vakum etüvü içerisinde bir gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Fosfomisin yüklü örneklerin hazırlanması için aynı prosedür 1,10,20,100 mg fosfomisin içeren PLGA/etil asetat çözeltileri ile tekrarlanmıştır.

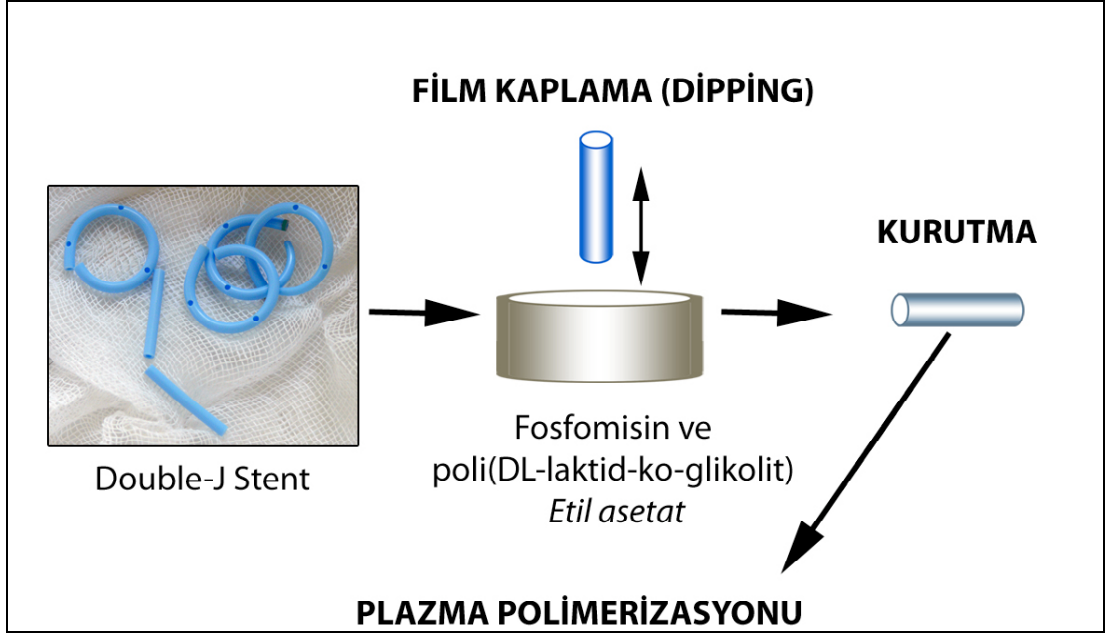
2.2.2. Fosfomisin Yüklü Double-J Stentlerin Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Modifikasyonu

Double-J stentlerin porozitesinin azaltılması ve fosfomisin salım profilinin düzenlenmesi amacıyla yüzey modifikasyonu radyo frekansı yük boşalım (RFGD) plazma polimerizasyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Plazma polimerizasyon sistemi olarak 13.56 Mhz radyo frekans jeneratörü ve içerisinde biri jeneratörün empedans ünitesine diğeri toprak hattına bağlı olan iki bakır elektrot bulunan reaktöre sahip Vakuum Praha (Çek Cumhuriyeti) plazma modifikasyon sistemi kullanılmıştır. Plazma reaktörü reaktör gazını boşaltması için 1×10^{-4} mbar'lık vakum pompasına bağlanmıştır. İşlem süresince reaktör monomer tankı ve argon gazı ile beslenmiştir. Plazma polimerizasyon sisteminin şematik gösterimi Şekil 2.1'de verilmiştir.

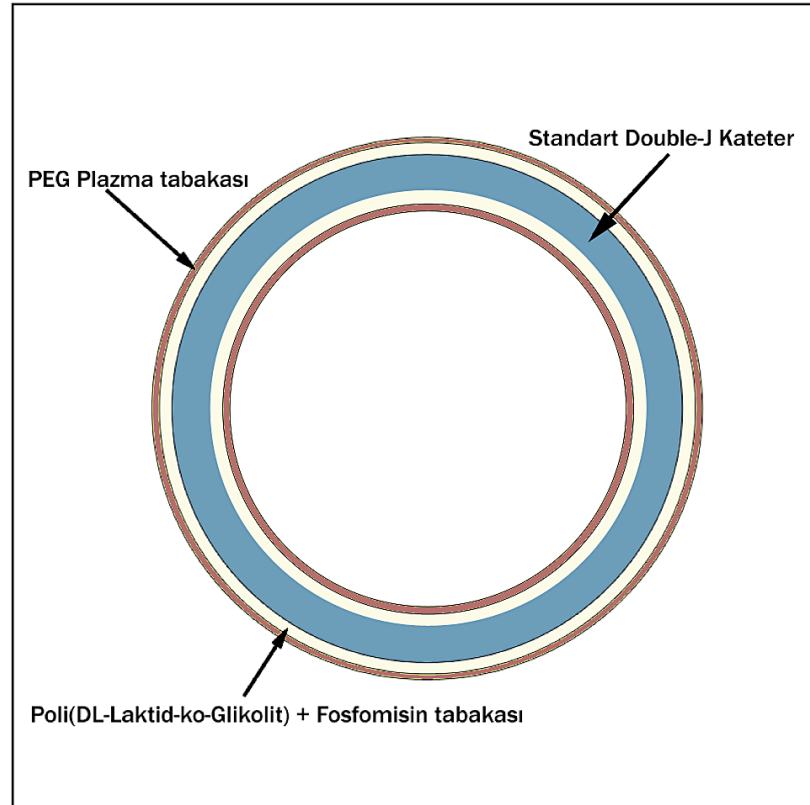


Şekil 2.1. Plazma Polimerizasyon Sistemi

Double-J stentlerin yüzey modifikasyonunda 30 W güç kullanılarak polietilen glikol (PEG) kaplamaları alt başlık 2.2.2.1.'de belirtilen prosedüre göre yapılmıştır.



Şekil 2.2. Fosfomisin yüklü modifiye double-J stentlerin hazırlanması şematik gösterimi



Şekil 2.3. Fosfomisin yüklü modifiye double-J stentlerin kesit şematik gösterimi

2.2.2.1. Plazma Polimerizasyon Prosedürü

- Örnekler bakır elektrotların ortasında olacak şekilde örnek sehpa üzerine yerleştirilir ve reaktörün kapakları sızdırmazlık sağlanacak şekilde kapatılır.
- Vakum pompası çalıştırılır ve reaktör içerisindeki basınç 0,14 ~ 0,16 mbar'a düşürülür.
- Reaktör içerisinde kalan oksijen ve azot atomları gibi reaktiflerin süpürülmesi için sistemden 10 dakika inert argon gazı geçirilir.
- Homojen plazmanın sağlanabilmesi için gerekli olan 0.16 mbar'lık basınç tekrar sağlanır.
- Reaktör içerisine monomer beslenir ve işlem sadece monomer varlığını sağlamak için 10 dakika daha devam ettirilir.
- İstenilen güç ayarlanarak RF jeneratörü çalıştırılır ve boşalım sağlanır.
- İşlem sonrasında jeneratör kapatılır ve reaktör içerisindeki polimer yüzeyine tutunabilecek monomer ve radikal kalıntıları uzaklaştırmak için sistemden 10 dakika argon gazı geçirilir.
- Son olarak örnekler 10 dakika vakum altında tutulur ve cihazdan alınarak analizler için kapalı kaplarda saklanır (Akdoğan E ve ark. 2005).

2.2.3. Deney Hayvanları Materyali

In vivo testler için Yeni Zelanda Beyaz (New Zealand White) türü 3 aydan büyük erkek tavşan tercih edilmiştir. Dişi tavşanlarda internal sifinkter aktivitesinin fazla olması nedeniyle uygulamada kolaylık sağlaması nedeniyle erkek tavşan tercih edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan toplam 24 adet tavşan Sağlık Bakanlığı Dr. Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü Serum Çiftliği den temin edilmiştir. Bu tavşanlar Yeni Zelanda ırkından olup ağırlıklarının 1.350 ile 2.150 kg arasında değiştiği saptanmıştır.

Çalışmamızdaki 24 tavşandan, önce altı adetlik bir grup oluşturularak endoskopik stent yerleştirme ve numune toplama yönteminin standartlaştırılması ve 2 günlük ve bir haftalık stent numunelerinin incelenmesi uygulandı. Bu çalışmada kullanılan düz stent parçalarının spontan miksiyon ile atılmasının gözlemlenmesi nedeniyle stent şekillerinin değiştirilmesine ve stentlerin loop kısımlarının kullanılmasına karar verilerek bu bölümlere kaplama işlemi uygulandı.

Daha sonra oluşturulan altı tavşanlı gruplarda bir tavşana birden çok stent yerleştirilerek 1, 6 ve 12 hafta sonuçları elde edildi.

Çizelge 2.1 Tavşanlara yerleştirilen stentlerin özellikleri

Örnek No	Poli(laktid-ko-glikolit)*	Fosfomisin**	Polietilen glikol
1	-	-	-
2	+	-	-
3	+	+	-
4	-	-	30 dk
5	+	+	5 dk
6	+	+	30 dk
* Poli(laktid-ko-glikolit) kaplama 20mg/mL etil asetat çözelti ile gerçekleştirilmiştir.			
** Fosfomisin miktarı polimerik çözelti içerisinde 100mg dispersiyon olarak kullanılmıştır.			

2.2.4. Sistoskopi ve Uygulanması

Sistoskopi ürolojideki tanı ve tetkik yöntemlerinden biri olup aynı zamanda *biopsi* alınması, double j stent takılması ve çıkarılması amacıyla da kullanılmaktadır. Sistem soğuk ışık kaynağı, bunu ileten kablo, serum

fizyolojik ile sağlanan irrigasyon kapalı sistemi, sistoskopi aleti ve teleskopik mercek sisteminden oluşmaktadır. İnsanlara uygulandığı şekli ile tavşanlara uygulanmıştır. Kaydırıcı ve antiseptik olarak Cathagel kullanılmıştır. Aletlerin dezenfeksiyonu için her işlemten sonra Cidex solusyonunda bekletilip serum fizyolojik ile yıkanması prosedürü uygulanmıştır.

İşlem direkt gözle görerek yapılmıştır. Stentlerin çıkarılması için biopsi pensi kullanılarak sistoskopi kanalından tutularak çıkarılmıştır.

2.3. Karakterizasyon

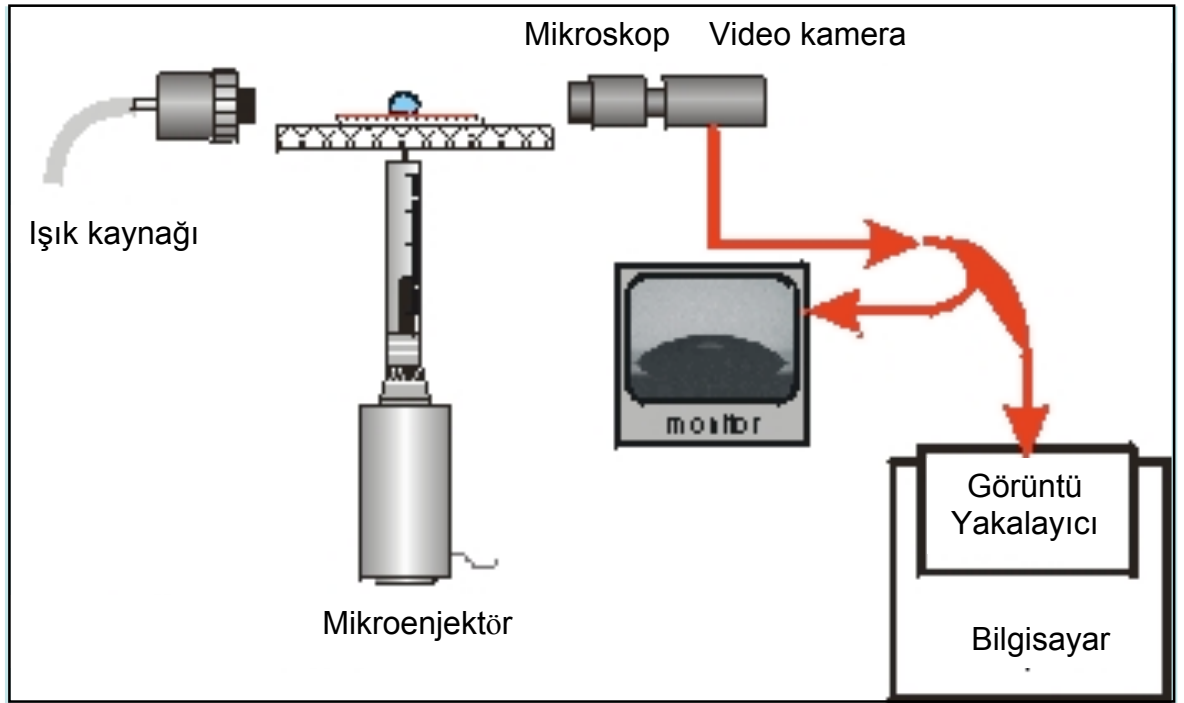
2.3.1. Morfolojik İncelemeler

Uretral double J stentlerin ve bu stentlerin fosfomisin yüklenerek polimerik materyaller ile kaplanarak hazırlanmış formlarının morfolojik incelemeleri stereo optik mikroskop (Olympus, Japonya) ve taramalı elektron mikroskopu (SEM) (JEOL, Japonya) kullanılarak 5,0–20,0 kV enerji ve 15-250 X büyütme ile gerçekleştirilmiştir. Optik mikroskop ile oluşan taşlaşmaların makro özellikleri incelenmiş, elektron mikroskopisi kullanılarak taşlaşma miktarı ve taş yapıları hakkında detaylı incelemeler gerçekleştirilerek özellikle hazırlanan polimerik kaplamaların yüzey özelliklerinde oluşturduğu değişimler araştırılmıştır.

2.3.2. Double-J Stentlerin Yüzey Hidrofilisiteleri

Sunulan çalışma kapsamında modifiye edilmemiş stentler ile yüzeyleri değişik girişimlerle modifiye edilen stentlerin tümünün yüzeylerine ait temas açısı değerleri damlacık ölçüm yöntemi adı verilen teknik kullanılarak belirlenmiştir. (Yasuda ve ark, 1994) Metoda göre hazırlanan düzenek Şekil

2.4.'te belirtilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi sistem bir ışık kaynağı, mikroskop ve ona bağlı bir video kamera ile elde edilen görüntüyü bilgisayar ortamına taşıyacak bir görüntü yakalayıcı ve bir bilgisayardan oluşmaktadır. Burada yapılan işlem platform üzerine yerleştirilen numune yüzeyine bir mikroyenjör kullanılarak yaklaşık olarak 5 mikrolitre hacminde bir su damlası damlatmak ve bu damlanın görüntüsünü mikroskop-video kamera ve görüntü yakalayıcı vasıtasıyla bilgisayara aktarmak ve daha sonra da bu görüntüdeki su damlacığı ile yüzey arasında kalan açının değerini belirlemek şeklindedir.



Şekil 2.4. Temas açısı ölçüm düzeneği

2.3.3. İlaç Salım Çalışmaları

Double - J stentlerin yüzeyine poli(laktid-ko-glikolit) içerisinde hapsedilerek kaplanan fosfomisin bu polimer içerisinde bulunduğ ortamına salımını ve bu salım profiline plazma polimerizasyon yöntemi ile gerçekleştirilen PEG

kaplamanın etkisini incelemek amacıyla yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle fosfomisin miktarı tayin edilmiştir.

2.3.3.1. HPLC Yöntemiyle Fosfomisin Tayini

Fosfomisin disodyum tuzunun tayini amacıyla differansiyel refraktometre dedektörü (SHODEX) ile ölçüm yapan bir HPLC sistemi (DIONEX) kullanılmıştır. Kromatografik koşullar, mobil faz 10.89 g/L potasyum dihidrojenfosfat çözeltisi, akış hızı 1.0 ml/dk, enjeksiyon 20 µL, kolon 5 µm tanecik çaplı 0.2m uzunluğunda 4.6mm çaplı C18 silika jel kromatografik kolon olarak belirlenmiştir.

Kalibrasyon analizleri mobil faz çözeltisi içerisinde çözünmüş fosfomisin disodyum ile gerçekleştirilmiştir. Salım profillerinin belirlenmesi amacıyla 37°C de sabit tutulan çalkalamalı su banyosu içerisinde ortam yenilenerek mobil faz içerisinde kateterler bekletilerek gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında mobil faz içerisinde 100 µl çözelti alınarak analiz edilmek üzere saklanmış ve alınan miktar taze ortam ile tamamlanarak seyreltmeden kaynaklanan matematiksel düzeltmeler yapılarak ortama salınan fosfomisin miktarları hesaplanmıştır.

2.3.4. Enkrustasyon Oluşumu İncelenmesi

2.3.4.1. In Vitro Enkrustasyon Oluşumu

Hazırlanan modifiye stentlerin taş oluşumu üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla 10 mm stent parçaları, sentetik idrar çözeltisi içerisinde 37°C de sabit tutulan çalkalamalı su banyosu içerisinde 8 saatlik periyotlarda idrar çözeltisi değişecek şekilde hazırlanan sistem içerisinde tutularak, stentlerin

yüzeyinde oluşan taş miktarı ve türleri atomik emisyon spektroskopisi (AES) ve taramalı elektron mikroskopuna bağlı enerji dispersiv X-ışını (EDX) spektroskopisi yöntemleriyle incelenmiştir. Enerji dispersiv X-ışını spektrumları SEM görüntülemesi esnasında 250 büyütme ile enkrustasyon oluşumunun bulunduğu bölgelerden alınmıştır.

Enerji dispersiv X-ışını spektroskopisi kimyasal karakterizasyon için kullanılan analitik bir yöntemdir. EDX, madde ve sistem tarafından gönderilen X-ışınlarının arasındaki etkileşime dayanan bir spektroskopik yöntemidir. Bu yöntemin karakterizasyon yeteneği periyodik tabloda bulunan her elementin kendine özgü bir elektronik yapısı bulunması ve bu yapının elektromanyetik dalgalara özgün tepkiler vermesi ilkesine dayanmaktadır (Stefaniak ve ark, 2006).

2.3.4.2. *In Vivo* Enkrustasyon Oluşumu

In vivo deneyler sonucunda elde edilen örnekler bir önceki bölümde belirtilen spektroskopik yöntemler kullanılarak incelenmiştir.

2.3.5. Bakteriyolojik İncelemeler

2.3.5.1. *In vitro* Bakteriyolojik İnceleme

Yapılan çalışmalarda her grup için kateterler 1 cm'lik kesitler halinde hazırlanıp; plazma polimerizasyon tekniği ile kaplanarak veya kaplanmayarak deney için uygun hale getirilmiştir. Her bir örnek için 3 tekrar çalışılmıştır. Hazırlanan kateterlerin antimikrobiyal adhezyon özellikleri araştırılmak üzere ATCC (American Type Culture Collection) standart bakteri suşları kullanılmıştır. Çalışmalarda *Escherichia coli*-ATTC-25922 gram-negatif basil bakterisi ve steril serum fizyolojik ile hazırlanan solusyonlar 0.5 Mc Farland

(1×10^8 cfu/ml)'a ayarlanmıştır. Her örnek için 1 ml solusyon içine bırakılan kateterler 18-24 saat 37°C 'de inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından kullanılan cam tüplerin yüzeyindeki bakterilerden arınması amacıyla tüp değiştirilerek kateter yeni tüpe aktarılmış ve tekrar 1 ml steril serum fizyolojik eklenmiştir. Ardından ikişer dakika vortekslenerek kateter yüzeyine tutunmuş bakterilerin serum fizyolojiğe geçişleri sağlanmıştır. Böylelikle oluşturulan bakteri solusyonundan $10\mu\text{l}$ 'lik öze yardımıyla sıvı örnekler alınarak katı EMB agar'a pasajları yapılmıştır. 37°C 'de etüvde 18-24 saatlik inkübasyondan sonra koloni sayımları yapılarak sunulan veriler elde edilmiştir.

2.3.5.2. *In Vivo* Bakteriyolojik İnceleme İçin Numune Toplanması ve İncelenmesi

Üriner antibiyotik (fosfomisin) kaplı üreteral stentlerin örnekleri her bir erkek tavşanın mesanesi içine endoskopik olarak yerleştirildi. Altı farklı kaplama özelliği olan stent parçaları bir tavşana birden fazla örnek olacak şekilde yerleştirildi. Denek ve kontrol grubu mesanelerine endoskopik olarak konan stent parçaları 1.hafta 6. Hafta ve 3. Ayda çıkarıldı. Tamamen taşlaşmamış olanlar sistoskopik olarak çıkarıldı. Tam taşlaşmış olanlar ise sistolitotomi cerrahi yöntemi ile çıkarıldı.

Hayvan deneyleri esnasında biopsi pensi kullanılarak sistoskopi kanalından tutularak çıkarılan stentlere doku artıklarından arındırılmak amacıyla steril serum fizyolojik ile yıkama yapılmıştır. Ardından *in vitro* çalışmalar sırasında kullanılan yöntemle stentler 1 ml steril serum fizyolojik içerisinde 2 dakika vorteklenmiş ve $10\mu\text{l}$ 'lik öze yardımıyla sıvı örnekler alınarak katı EMB ve kanlı agara pasajları yapılmıştır. 37°C 'de etüv içerisinde 18-24 saatlik inkübasyondan sonra koloni sayımları yapılarak sunulan veriler elde edilmiştir.

2.4. Tavşan Modeli Geliştirilmesi

Üriner sistemde kullanılan stentlerin çeşitli farmasötik maddeler ile kaplanması sonucunda etkinliklerinin araştırılması için invivo idrar ortamı gereksinimi vardır. Bu amaçla tavşan mesanesine, minimal invaziv endoskopik yöntemlerle stent yerleştirip, örnek toplayarak insan modeline uygun ortam yaratılmaya çalışılmıştır.

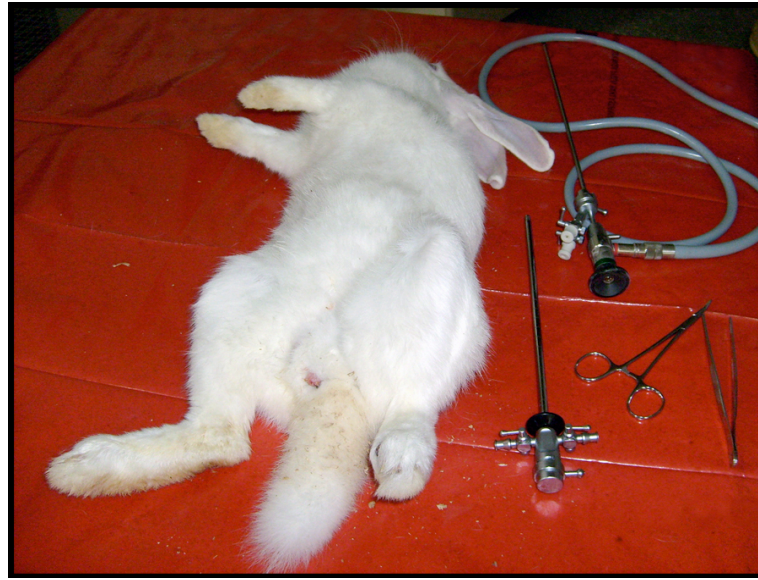
Yoğun idrar ortamı nedeniyle tavşan uygun bir deney hayvanı olup yöntem olarak açık cerrahi yaklaşım yerine endoskopik yaklaşım tercih edilmiştir. Çalışmamızda Yeni Zelanda Beyaz türü 3 aydan büyük erkek tavşanlarda 21 fr'e kadar sistoskop şitinin rahatlıkla uygulanabildiği ve insan üretrası gibi verumontanumla uyumlu sfinkter ve mesane boynunun mevcut olduğunu izlenmiştir.

Tavşanların anestezisinde kilogram başına 40 mg/kg ketamin Hcl + 4 mg/kg xylazine kombinasyonu intramüsküler uygulanmıştır. Yaklaşık 10- 15 dk içinde tavşanlarda anestezi safhası oluşmuştur ve bu süre 1.5 saate kadar uzamıştır (Popilskis S.J. ve ark, 1991).

Çalışmamızdaki ilk tavşan grubunda öncelikle mesaneye yerleştirilen ucu açık 14 fr aspirasyon kateterinin içinden stent parçalarının itilerek mesaneye yerleştirilmesi yöntemini denenmiştir. Bu yöntemde tavşanların numune toplanması için opere edildiklerinde; kateterden idrar gelmesine rağmen stent parçalarının mesane yerine verumontanum bölgesine, prostatik utrikula veya genital kanallar içine yerleştirilmiş olduğu tespit edilmiştir.

Daha sonra bu işlemi aynı çapa yakın olan 13 fr lık pediatrik sistoskop kullanarak, gözle görülerek kontrollü olarak mesaneye ulaştıktan sonra stent parçalarının mandren yardımı ile itilerek mesaneye yerleştirilmesi yöntemini uygulanmıştır. Bu işlem sırasında tavşan ürethrasının da insandaki gibi anterior, membranöz, prostatik ve mesane boynu kısımlarını içerdiği

gözlemlenmiştir. Bu yöntemde stent yerleştirmek başarılı olmasına rağmen numunelerin endoskopik toplanmasında yeterli tutma ve çekme gücü yabancı cisim pensi ile sağlanamamıştır. Bunun üzerine daha geniş çaplı sistoskop kullanmasına karar verilmiştir. Yapılan uygulamalarda 17 fr ve 21 fr sistoskopların 3 aydan büyük tavşanların ürethralarından kolayca geçebildikleri tespit edilerek, sonraki çalışmalarımız bu doğrultuda sürdürülmüştür.



Şekil 2.5. Sistoskopi malzemeleri ve anestezi uygulanmış tavşan

Son olarak 17 fr ve 21 fr sistoskop şitleri kullanarak stent parçalarının sistoskop şiti içinden guide wire üzerinden itilerek mesaneye bırakılması yöntemi uygulanmış arkasından kontrol sistoskopisi ile durum kontrol edilmiştir.



Şekil 2.6. Tavşana sistoskopi işleminin uygulanması

Bu örneklerde numune toplamada kısa süreli gözlem gruplarında stent parçalarının yabancı cisim pensi ile en az zarar görmüş şekilde çıkarıldığı tespit edilmiştir. Uzun süreli gözlem grubunda yapılan sistoskopik incelemede ise aşırı taşlaşmış numuneler tespit edildiğinden, çıkarmak için sistolitotomi (açık operasyon) tercih edilmiştir.



Şekil 2.7. Fosfomisin kaplı stentin sistoskopi şiti içinden itilerek mesaneye yerleştirilmesi.

İlk grup çalışmamızda seçilen stentler öncelikle düz stentlerden oluşmakta idi. Bunların miksiyon ile atıldığı tespit edilmesinden sonra tavşan ürethrasına 5 fr'lik stent üzerinden sörklaj sütürleri atılarak idrarın geçmesi sağlanmış ve stentin atılması durdurulmaya çalışılmıştır. Tek sütür atılanlarda stentlerin miksiyonla atılması nedeniyle 2 ve 3 sütür atma yöntemi denenmiştir. Bu gruplarda ise stent parçalarının sütür gerisinde birikerek komplikasyonlara sebep olduğu gözlenmiştir. Stentler penil urethrada birikerek infeksiyon, taşlaşma, mesane distansiyonu ve mesane perforasyonuna sebep olmaktadır. Daha sonra double j kateterlerin loop kısımları kesilerek halka şeklinde guide wire üzerinden mesaneye yerleştirilmiştir. 2 adet dairesel ve 1 adet 2 cm lik düz stent yerleştirdiğimiz grupta düz stentlerin miksiyonla atıldığı, loop olanların ise sörklaj sütürü atılmamış olsa bile mesanede deney süresi boyunca kalabildiği gözlenmiştir.



Şekil 2.8. Mesaneye yerleştirilen düz ve yuvarlak stent parçaları

Deney grubumuz 21 fr sistoskop içinden halka şeklinde stent yerleştirilecek şekilde yeniden düzenlenmiştir.

Dairesel loop tarzındaki stent parçalarının kullanılmasında ise bir adet sirküler tarzda dikiş atılmasına gerek olmamaktadır. Çünkü stentler mesane boynunda takılmakta ürethraya geçememektedir. Yeterli süre sonunda urethral sûtür olanlarda sûtür açılarak, diğerlerinde direkt olarak sistoskop ile girilerek, stent parçaları yabancı cisim pensi ile tutulup çıkarılabilmektedir.



Şekil 2.9. Yerleştirme sonrası kontrol sistoskopisi

Sistoskopik olarak yuvarlak stentlerin kılavuz tel üzerinden itilmek suretiyle sistoskop şitinin içinden tavşan mesanesine yerleştirilmesi, double j stentlerin insana yerleştirilmesi prosedürü ile bire bir örtüşmektedir. Stentlerin yabancı cisim pensi ile tutularak çıkarılması, taşlaşmış olgularda sistolitotomi ile çıkarılması; sistemin ve stentin yerleştirme ve örnek toplama sırasında dış etmenlerden en az zarar görmesini sağlamaktadır. Bu model daha önceki stent çalışmalarının hiçbirinde uygulanmamış olup, gerekli laboratuvar incelemelerinin yapılabilmesi ve stentin insanlarda kullanım amacına en uygun şartları oluşturmaktadır.

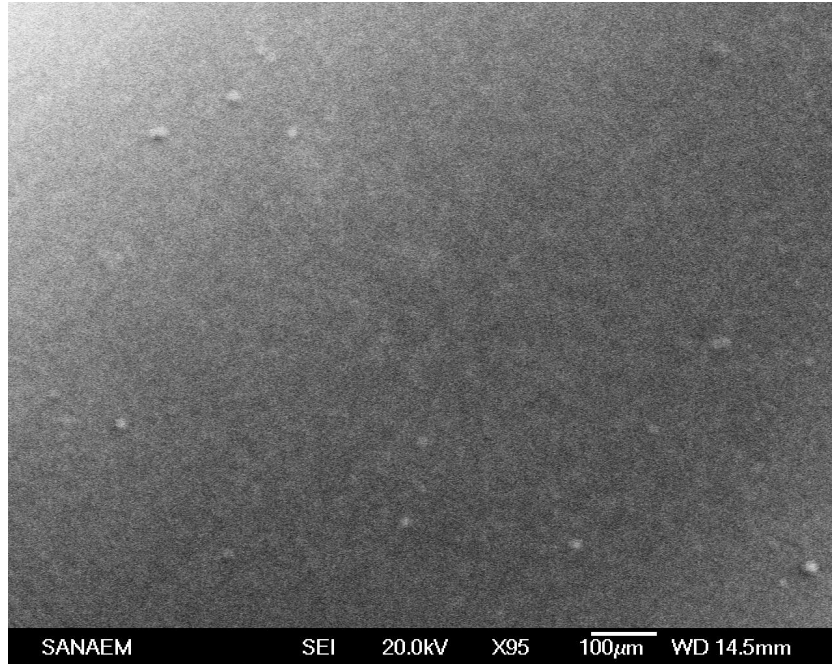
Tavşan modeli saptandıktan sonra 6 adet 3 aydan büyük erkek tavşan içeren 3 grup oluşturulmuştur. Birinci grup için bir haftalık, ikinci grup için 6 haftalık

üçüncü grup için 12 haftalık takip süreci için sistoskopik olarak stentler yerleştirilmiştir. İnceleme için süresi tamamlanan stentler birinci ve ikinci grupta sistoskopik olarak, üçüncü grupta ise sistolitotomi yöntemi ile çıkarılarak toplanmıştır. Üçüncü grupta, stent parçalarının aşırı taşlaşmış olmaları ve sistoskopiden geçemeyecek olmaları nedeniyle açık cerrahi prosedür uygulanmıştır.

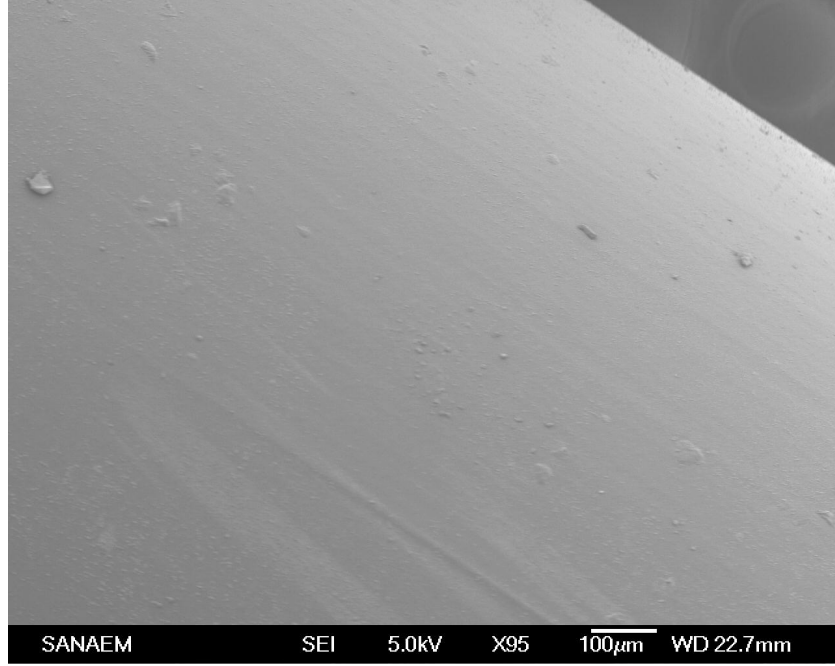
3. BULGULAR

3.1. Morfolojik İncelemeler

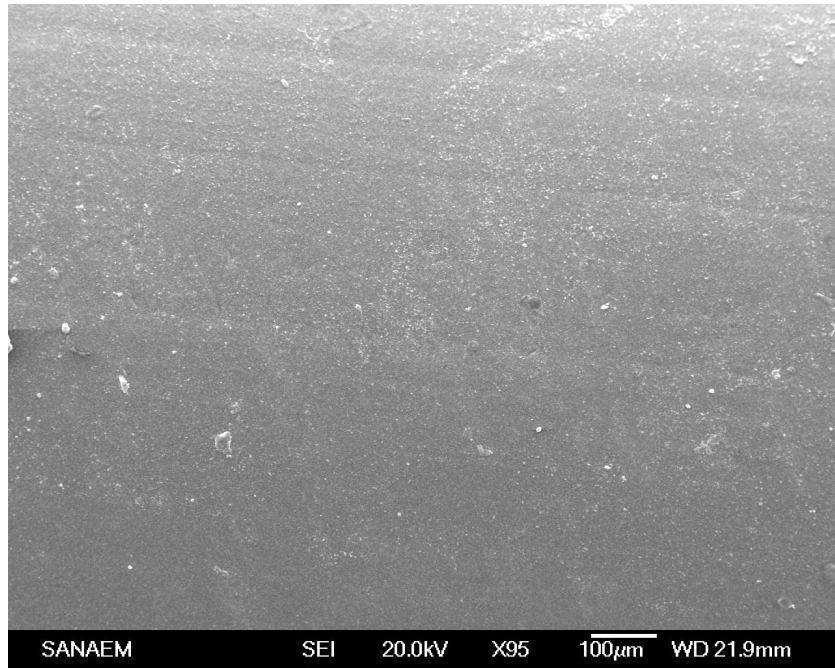
Double J stentlerin yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve stereo optik mikroskop ile incelenmiştir. Şekil 3.1 A,B ve C’de standart stent, fosfomisin yüklü poli(laktid-ko-glikolit) kaplı stent ve fosfomisin yüklü poli(laktid-ko-glikolit) ile kaplandıktan sonra plazma polimerizasyon yöntemi ile polietilen glikol kaplanmış stent yüzeyleri görülmektedir. PLGA ile kaplanan yüzeylerde poliüretan kateterin üretimi ve sonrasındaki aşamalarda oluşmuş gözenekler kaplamada kullanılan polimerik materyal tarafından doldurulmuştur. Bununla birlikte fosfomisin’in polimer çözeltisi içerisinde çözünmemesi nedeniyle fosfomisin kristalleri bazı bölgelerde yüzeyde çıkıntılar oluşturmuştur (Şekil 3.1.A,B). Plazma polimerizasyon yöntemi ile PEG kaplanan yüzeylerde homojen bir kaplama gerçekleştirilmiş, fakat teorisi nedeniyle nano-ölçekte gerçekleşen bu kaplama da fosfomisin’den kaynaklanan poroziteyi önlememiştir (Şekil 3.1.C).



Şekil 3.1.A . Standart double-J kateter yüzeyi



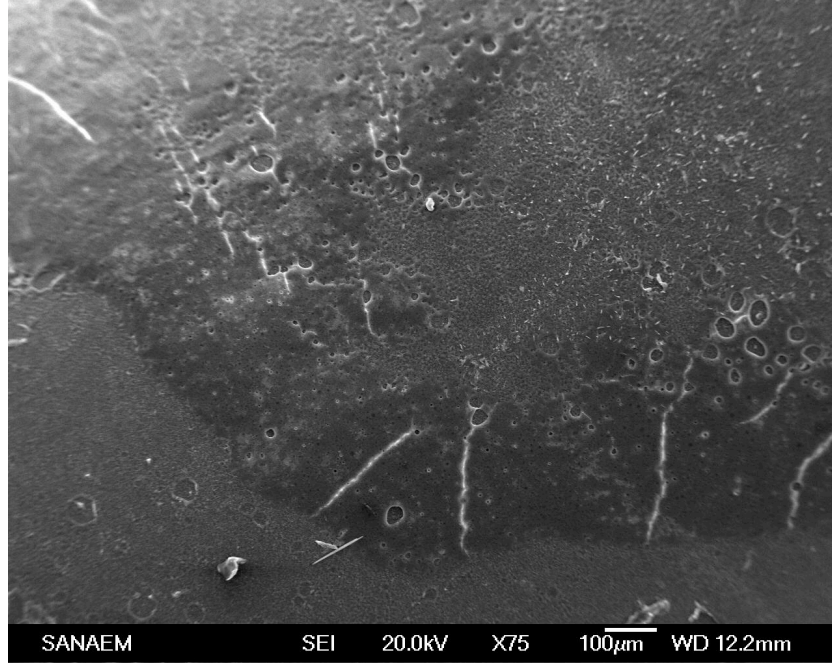
Şekil 3.1.B. Fosfomisin yüklü PLGA ile kaplanmış double-j kateter yüzeyi



Şekil 3.1.C. Fosfomisin yüklü PLGA ile kaplandıktan sonra plazma polimerizasyonu ile PEG kaplanmış double-j kateter yüzeyi

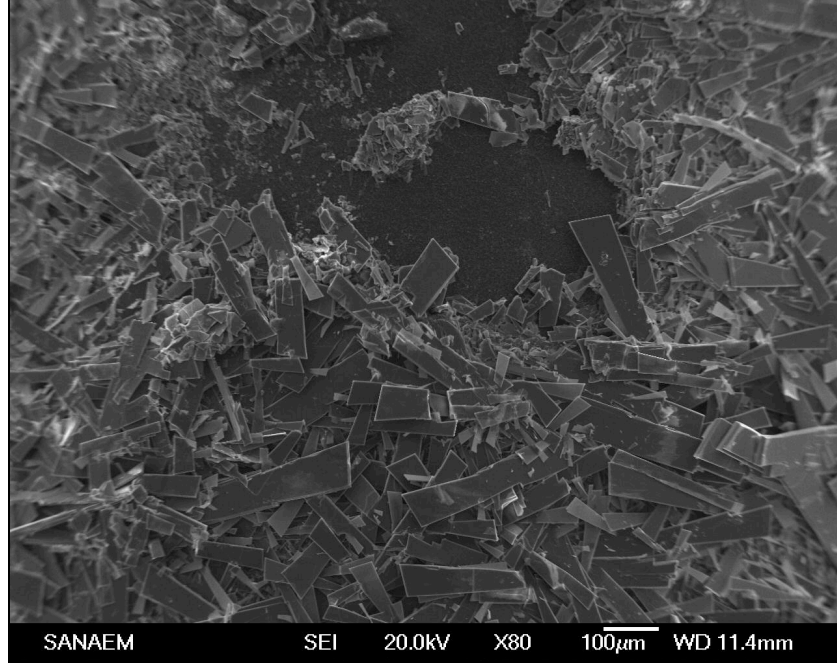
In vitro ilaç salım testlerinde kullanılan stentlerden 3. hafta sonunda alınan bir örneğin mikroskop görüntüsü Şekil 3.2'de görülmektedir. Polimerik materyalin ilaç salım ortamı içerisinde zamanla bozunmaya uğradığı ve polimerik

materyalde beklenildiği üzere düzensiz boşluklar oluştuğu görülmüştür (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. İlaç salım ortamında 3. Hafta sonrasında double-J stent yüzeyindeki polimerik kaplamanın degradasyonu.

Enkrustasyon testleri için sentetik idrar çözeltisi içerisinde bekletilen örneklerden iki tanesi taramalı elektron mikroskopisi için ayrılmıştır. Bu örnekler üzerinde zamanla meydana gelen taş oluşumu Şekil 3.3.A,B'de görülmektedir. Standart poliüretan kontrol örneği ile kıyaslandığında fosfomisin yüklü PLGA ve PEG ile kaplanmış stentte oluşan taş miktarının oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.



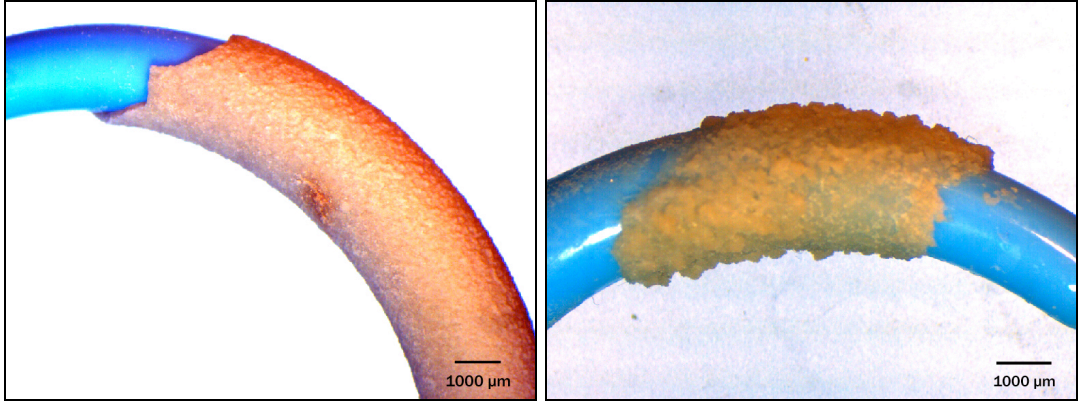
Şekil 3.3.A. Standart poliüretan stent üzerinde oluşan taşlaşmanın taramalı elektron mikroskop görüntüsü.



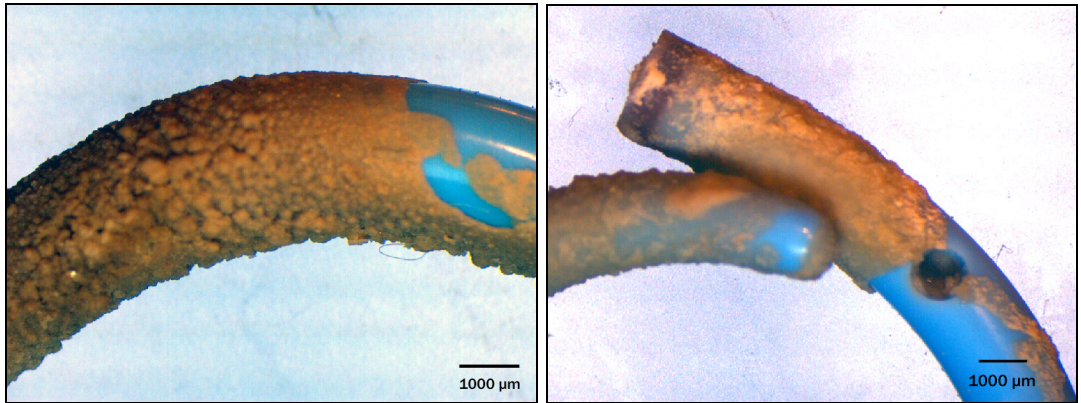
Şekil 3.3.B. Fosfomisin yüklü PLGA ve PEG kaplı stent yüzeyinde oluşan taşlaşmanın taramalı elektron mikroskop görüntüsü.

In vivo deneylerden alınan stent örnekleri, makro özelliklerini incelemek amacıyla birinci hafta (Şekil 3.4.A,B,C,D,E,F), altıncı hafta (Şekil 3.5.A,B,C,D,E,F) ve 12.hafta (Şekil 3.6.A,B,C) için stereo optik mikroskop ile görüntülenmiştir.

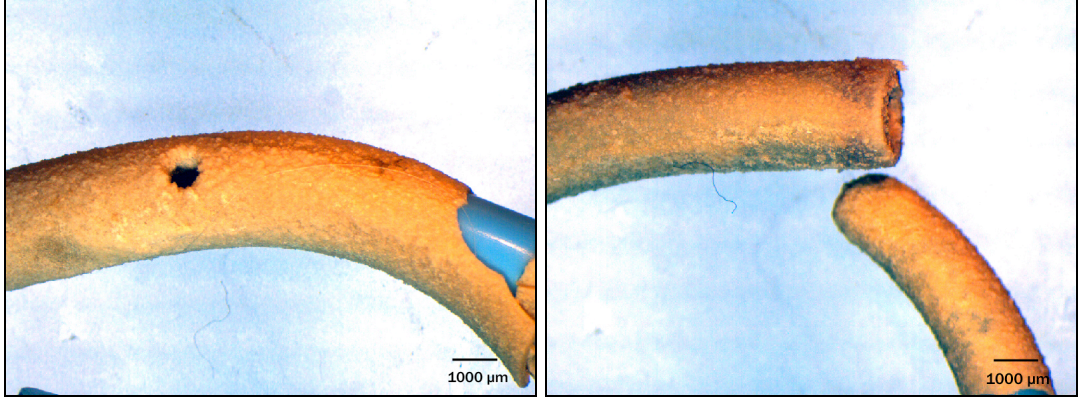
3.1.1. 1.Hafta taşlaşma sonuçları



Şekil 3.4.A,B. 1. Hafta kontrol ve PLGA kaplı stentlerin optik mikroskop görüntüsü.



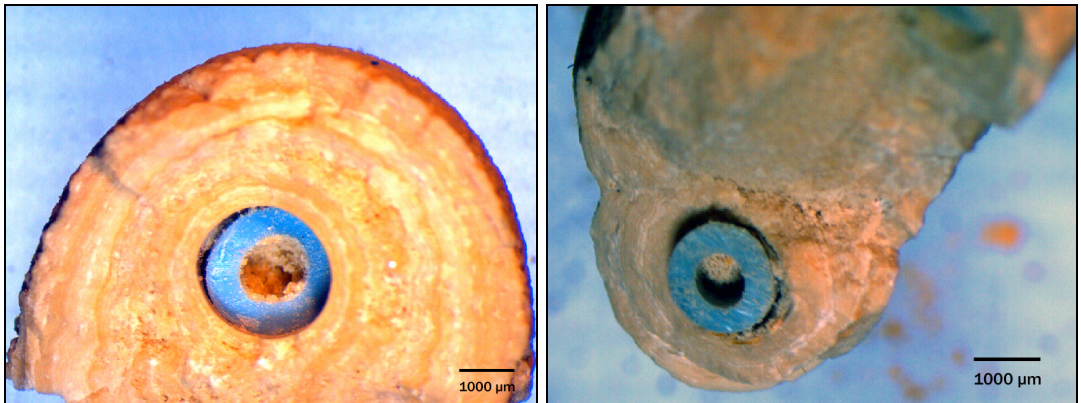
Şekil 3.4.C,D. 1. Hafta Fosfomisin yüklü PLGA kaplı stent ve sadece PEG ile kaplanmış stentin optik mikroskop görüntüsü.



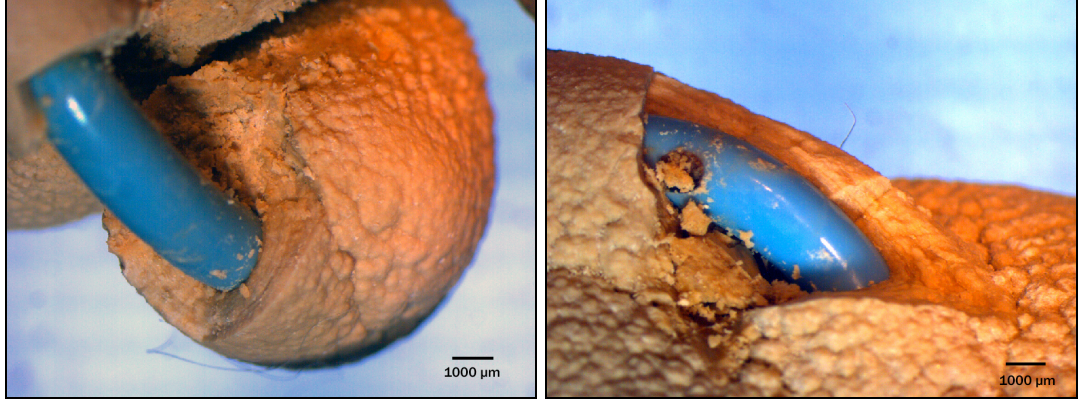
Şekil 3.4.E,F. 1. Hafta Fosfomisin yüklü PLGA ve 5dk PEG kaplı stent ve fosfomisin yüklü PLGA ve 30dk PEG kaplı stentin optik mikroskop görüntüsü.

Birinci hafta sonunda tavşan mesanesinden alınan kateter örneklerinin yüzeylerinde önemli bir enkrustasyon oluşumu gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Özellikle plazma polimerizasyon yöntemi ile polietilen glikol ile kaplanmış stent yüzeylerinde taş oluşumunun baskılandığı ve bu örnekler arasında da uzun süreli (30dk) polietilen glikol boşalımını gerçekleştiren stentlerde daha ince bir tabaka oluştuğu gözlemlenmiştir.

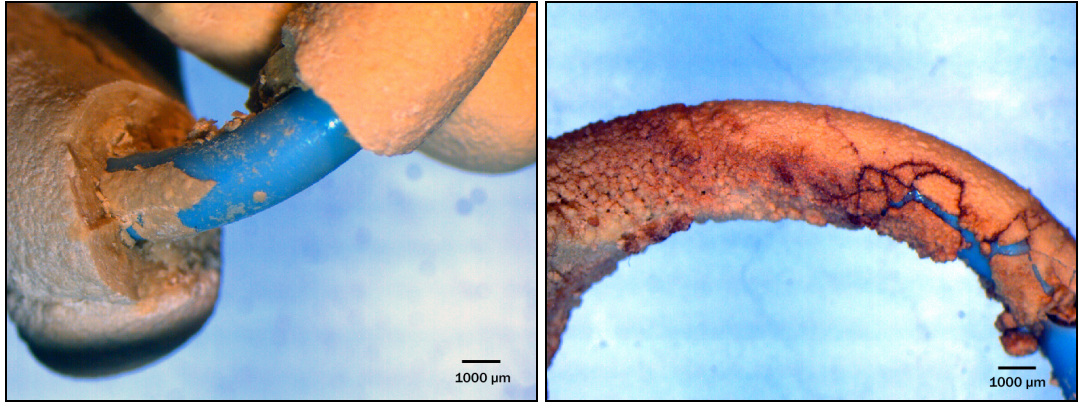
3.1.2. 6.Hafta taşlaşma sonuçları



Şekil 3.5.A,B. 6.Hafta Kontrol ve PLGA kaplı stentlerin optik mikroskop görüntüsü.



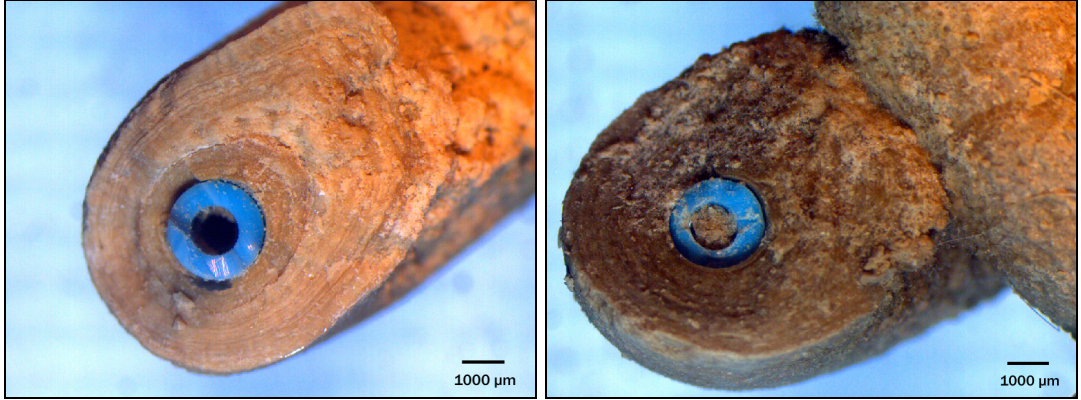
Şekil 3.5.C,D. 6.Hafta Fosfomisin yüklü PLGA kaplı stent ve sadece PEG ile kaplanmış stentin optik mikroskop görüntüsü.



Şekil 3.5.E,F. 6.Hafta Fosfomisin yüklü PLGA ve 5dk PEG kaplı stent ve fosfomisin yüklü PLGA ve 30dk PEG kaplı stentin optik mikroskop görüntüsü.

Altıncı hafta sonunda tavşan mesanesinden alınan kateter örnekleri incelendiği zaman fosfomisin yüklenmiş PLGA ve 30dk PEG ile kaplanmış stent dışındaki örneklerde önemli bir baskılama görülmemiştir.

3.1.3. 12.Hafta taşlaşma sonuçları



Şekil 3.6.A,B. 12. Hafta kontrol ve fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentlerin optik mikroskop görüntüsü.

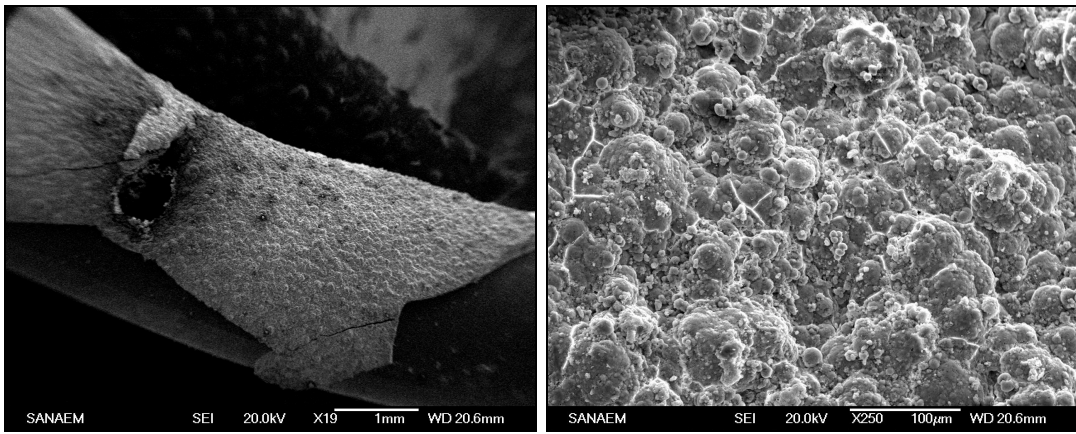


Şekil 3.6.C. 12.Hafta fosfomisin yüklü PLGA ve 30dk PEG kaplı stentin optik mikroskop görüntüsü.

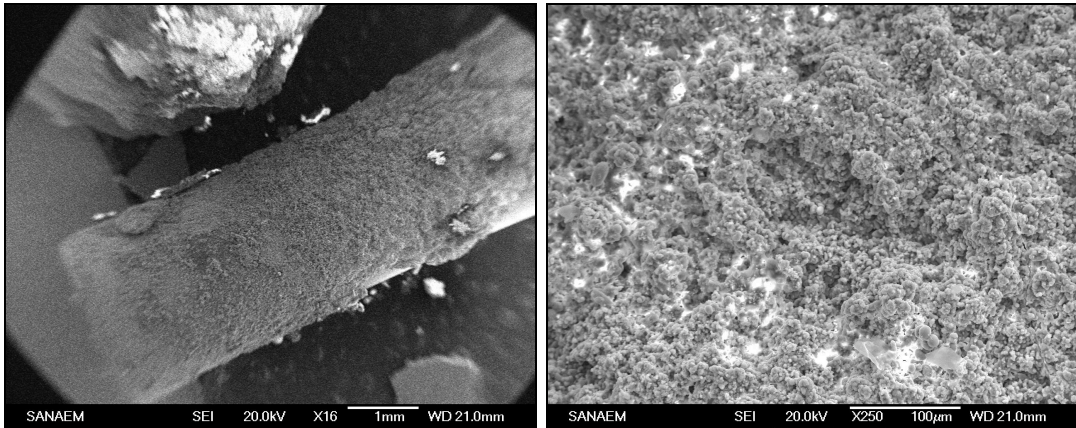
12. hafta sonucunda elde edilen stentler incelendiği zaman hiçbir kateterin enkrustasyonu engelleyemediği fakat bununla birlikte hazırlanan fosfomisin yüklenmiş PLGA ve 30dk PEG ile kaplanmış stentin diğer örneklerle karşılaştırıldığında en az enkrustasyona sebep olduğu görülmüştür. Bu sonuç, 30dk polietilen glikol kaplama ile yüksek hidrofilik karakterde bir yüzey kazanan stentin ilk süreçte yüzeye bakteri ve kristal tutunmasını zorlaştırması ve zamanla kaplama içerisinde ortama fosfomisin salımıyla birlikte poli(laktid-ko-glikolit) 'in erozyona uğraması ve beraberinde oluşan tabakalaşmanın bir kısmının yüzeyden uzaklaştırılması olarak açıklanabilir. Bu yaklaşımla stent üzerinde oluşan taşlaşmanın daha gözenekli ve daha az yoğun bir yapı oluşturması oldukça uyusmaktadır.

3.2. *In Vivo* Sonuçların Taramalı Elektron Mikroskopisi ile İncelenmesi

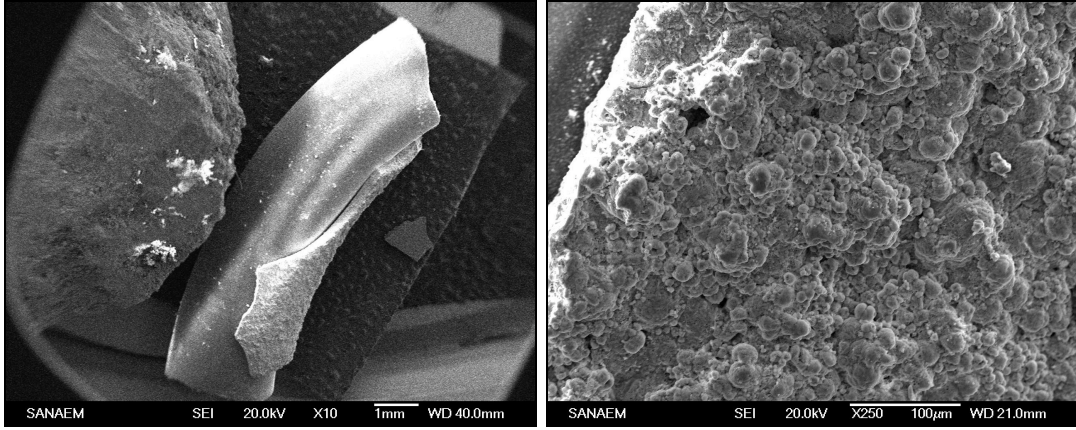
Yüzey özelliklerinin incelenmesi ve oluşan taşların fiziksel yapısındaki farklılıkların anlaşılabilmesi amacıyla birinci hafta (Şekil 3.7-10), altıncı hafta (Şekil 3.11-12) ve 12.haftalarda (Şekil 3.13-14) *in vivo* deneylerden alınan stent örnekleri taramalı elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir.



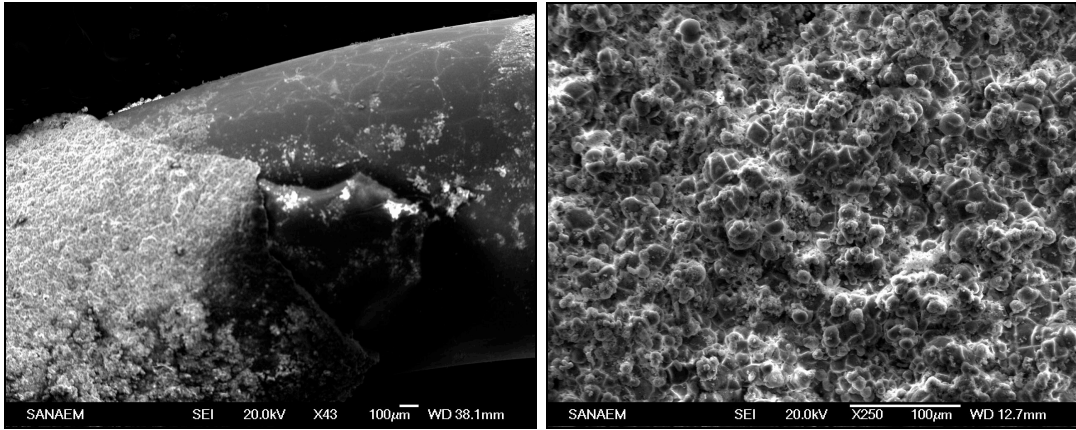
Şekil 3.7. 1. Hafta kontrol stentinin A)19, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.



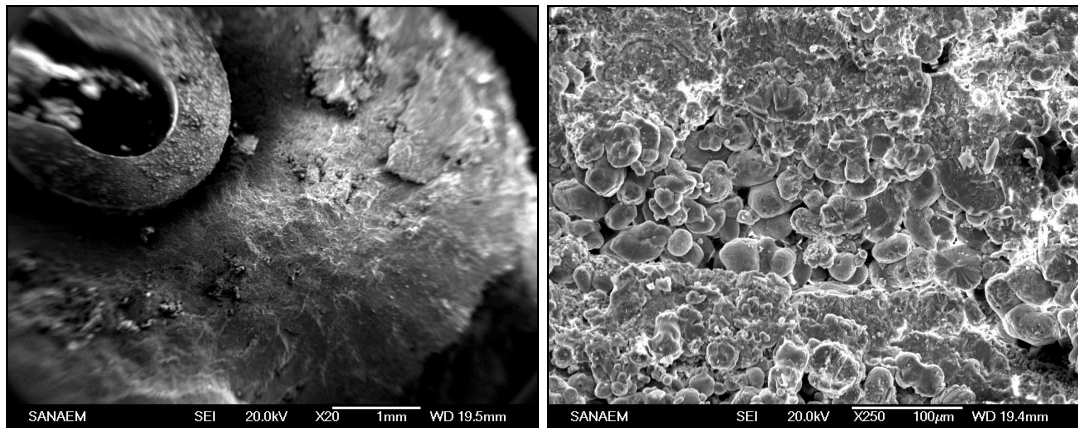
Şekil 3.8. 1. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış kontrol stentinin A)16, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu ile elde edilmiş görüntüsü.



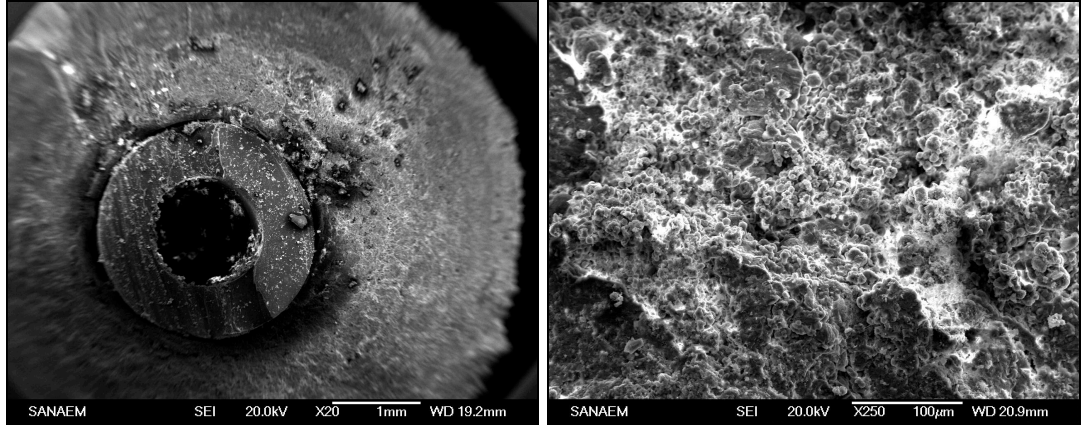
Şekil 3.9. 1. Hafta 5dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)10, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.



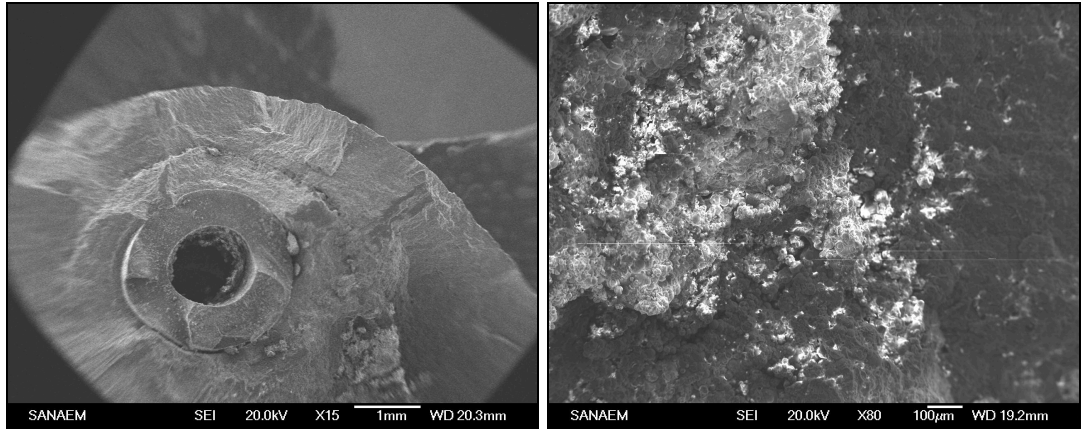
Şekil 3.10. 1. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)43, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.



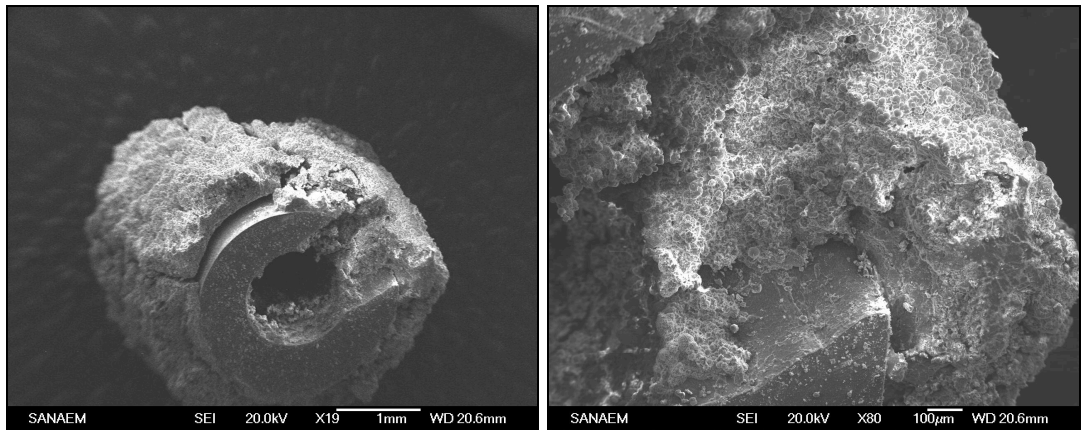
Şekil 3.11. 6. Hafta kontrol (standart poliüretan) stentinin A)20, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.



Şekil 3.12. 6. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)20, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.



Şekil 3.13. 12. Hafta kontrol (standart poliüretan) stentinin A)15, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.



Şekil 3.14. 12. Hafta 30dk PEG ile kaplanmış fosfomisin yüklü PLGA kaplı stentinin A)19, B) 250 büyütme ile taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.

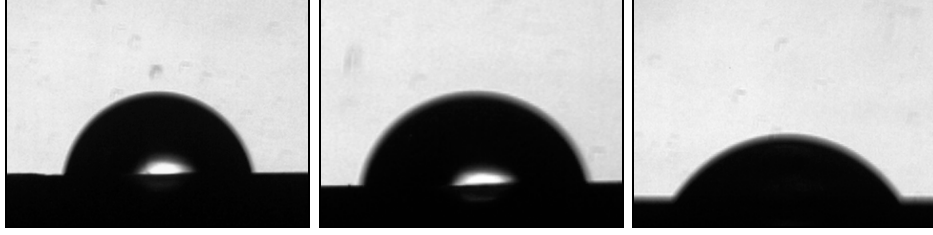
Elde edilen taramalı elektron mikroskop görüntüleri optik mikroskop görüntülerinden elde edilen gözlemlere uymaktadır. Bununla birlikte enkrustasyon sonucu oluşan yapıların aynı morfolojik özelliklere sahip oldukları da detaylı bir şekilde görülmektedir. *In vitro* deneylerde oluşan kristal yapıları ile *in vivo* deneylerde oluşan kristal yapıları arasındaki fark tavşanın diyeti ve buna bağlı olarak idrar kompozisyonundaki farklılık ile açıklanabilir.

3.3. Hazırlanan Double-J Stentlerin Temas Açıları

Double J stentlerin temas açısı değerleri durağan damlacık tekniği ile incelenmiş ve alınan sonuçlar Çizelge 3.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir. Şekil 3.15’deki fotoğraflardan rahatlıkla görülebildiği gibi kontrol, PLGA kaplı ve 30dk PEG ile kaplanmış stentlerin yüzey özellikleri kaplama türüne göre değişmektedir.

Çizelge 3.1.Hazırlanan double-J stentlerin temas açıları

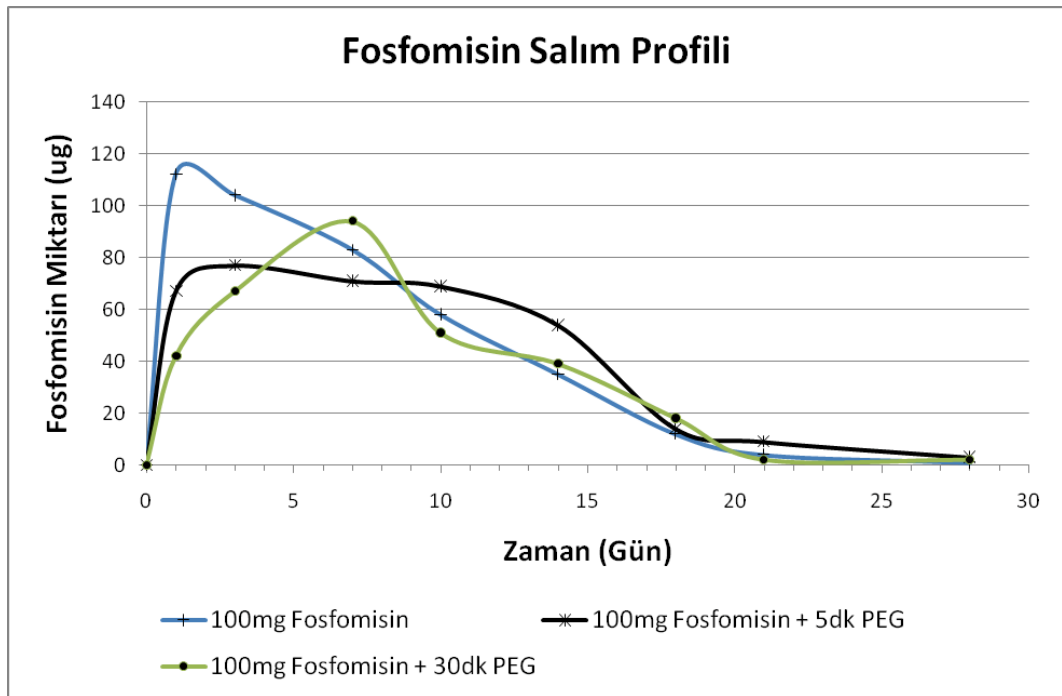
Plazma Polimerizasyonu Yöntemi ile Kaplanmamış Örnekler		
Temas Açısı	Kontrol (Standart kateter)	PLGA Kaplı
	73.4° (± 2.1)	80.2° (± 1.8)
	PLGA +20mg Fosfomisin Kaplı	PLGA +100mg Fosfomisin Kaplı
	76.4° (± 2.5)	75.2° (± 1.1)
	Plazma Polimerizasyonu Yöntemi ile Polietilen glikol Kaplanmış Örnekler	
	Kontrol (Standart kateter)	PLGA Kaplı
	59.4° (± 1.9)	33.8° (± 3.1)
	PLGA +20mg Fosfomisin Kaplı	PLGA +100mg Fosfomisin Kaplı
	31.2° (± 3.2)	29.7° (± 2.4)



Şekil 3.15. Kontrol, PLGA ile kaplanmış ve PEG ile kaplanmış stentlerin durağan damlacık yöntemi ile elde edilmiş temas açısı görüntüleri.

3.4. İlaç Salım Çalışmaları

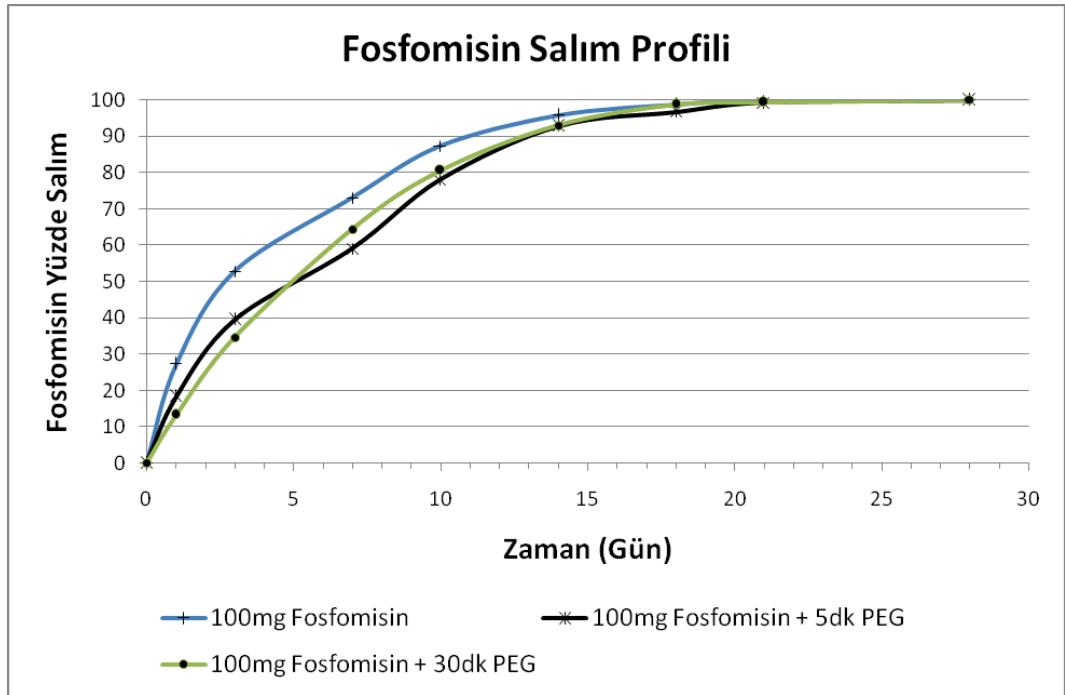
Şekil 3.16'da poli(laktid-ko-glikolit) içerisinde hapsedilerek kaplanan fosfomisin bu polimer içerisinden bulunduğu ortama salımını ve bu salım profiline plazma polimerizasyon yöntemi ile gerçekleştirilen PEG kaplamanın etkisi gösterilmiştir.



Şekil 3.16. Fosfomisin zamanla polimerik kaplamalardan potasyum dihidrojen içerisine salım profili.

Grafikte anlık konsantrasyonlar gösterilmiştir.

Polietilen glikol kaplamanın etkinliğinin plazma boşalım süresindeki artmaya bağlı olarak arttığı ve buna bağlı olarak ortama fosfomisin salımının geciktiği Şekil 3.16da görülmektedir. Bu gecikme poli(laktid-ko-glikolit) polimerinden fosfomisin salımının daha yüksek konsantrasyonlarda gerçekleştirmesini sağlamıştır. Fosfomisin konsantrasyonundaki bu artışın özellikle 5. İla 10. gün arasında gerçekleşmesinin, optik mikroskop ve taramalı elektron mikroskop ile elde edilen görüntülerde gözlenen enkrustasyon baskılamasını indüklediği düşünülebilir. Ancak bu etkinin yalnızca ortama fosfomisin salımı ile mümkün olmadığı, bunun yanında fosfomisin salımını sağlayan difüzyon kinetikleri ile poli(laktid-ko-glikolit) bozunmasına bağlı olarak yüzeyde oluşan erozyonun da etkili olduğu düşünülebilir.



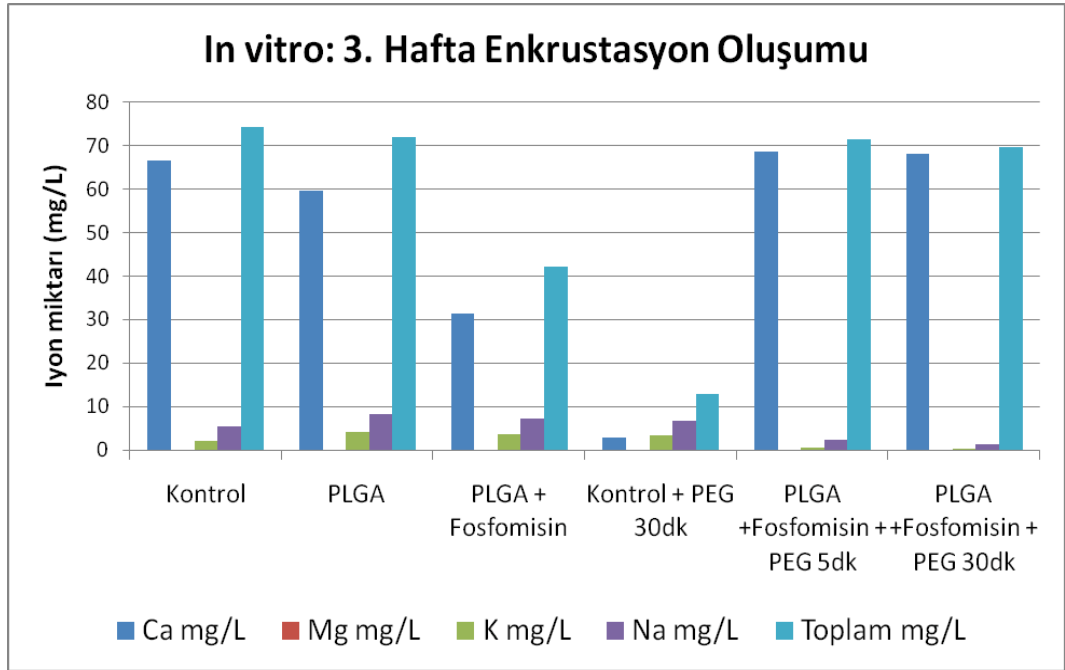
Şekil 3.17. Fosfomisinin zamanla polimerik kaplamalardan potasyum dihidrojen içerisine yüzde salım profili.

Grafikte toplam konsantrasyonlar gösterilmiştir.

3.5. Enkrustasyon Oluşumlarının İncelenmesi

3.5.1. In Vitro Enkrustasyon Oluşumu

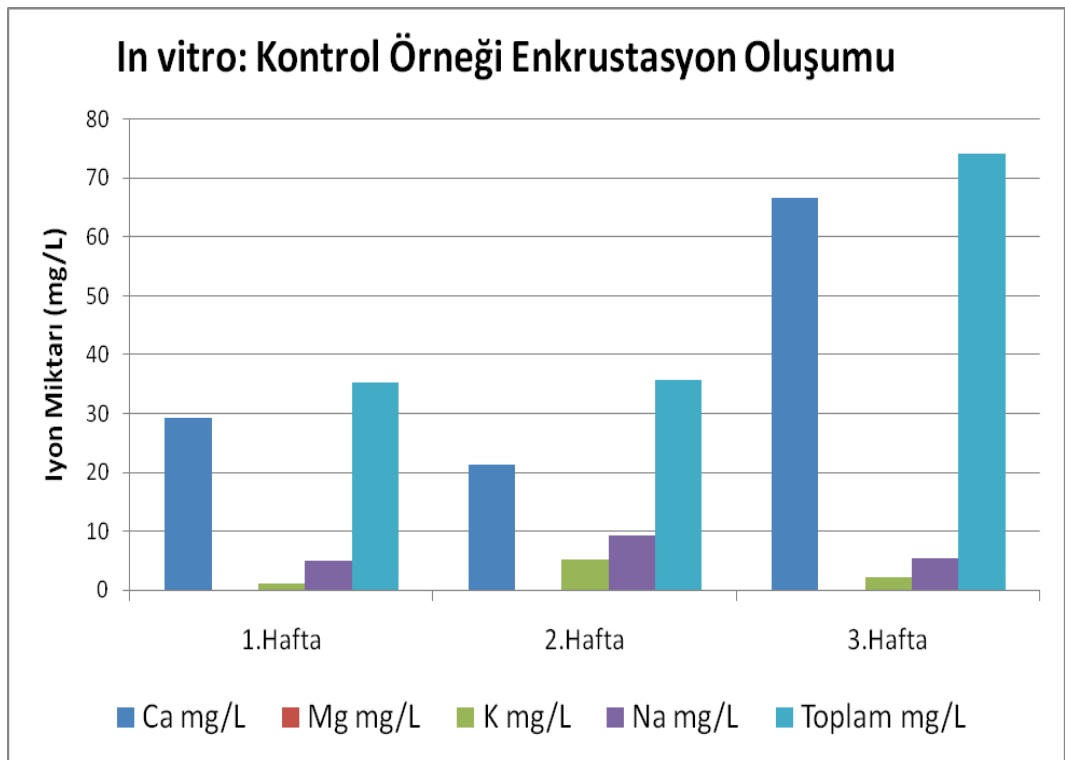
Yapay idrar ortamında belirtilen sürelerde 37°C 'de çalkalamalı su banyosu içerisinde tutulan kateter örneklerinde oluşan enkrustasyon miktarını saptamak amacıyla atomik emisyon spektrometresi ile elde edilen sonuçları Şekil 3.17 ve 18'de verilmiştir.



Şekil 3.18. 3. Hafta sonunda stent yüzeylerinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre dağılımları.

In vitro enkrustasyon çalışmaları sonucunda üçüncü hafta taş oluşumları karşılaştırıldığında, standart poliüretan kateter yüzeyine polietilen glikol ile yapılan kaplamanın enkrustasyonda önemli bir azalma sağladığı saptanmıştır. Bu sonuç üretim sonrası yapısında çizikler ve gözenekler bulunan poliüretan kateterin bu deformasyonlarının 30dk polietilen glikol ile kaplanmasıyla ortadan kaldırılarak mümkün olan en pürüzsüz yüzeyin elde edilmesiyle açıklanabilir. Ayrıca in vitro ortamda bakteri gibi enkrustasyonu tetiklemesi beklenen biyolojik etmenlerin bulunmaması fosfomisin yüklenmiş kateterlerin etkin bir sonuç vermemesine neden olarak gösterilebilir. Bununla

birlikte fosfomisin yüklenmiş ve poli(laktid-ko-glikolit) ile kaplanmış stent yüzeyinde oluşan taş miktarındaki azalma, fosfomisin kristallerinin PLGA çözeltisi içerisinde süspansiyon halde dağılmış olması ve kaplama sonucunda polimerik yapı içerisinde boşluklar oluşturması ile ortama salınırken yüzey alanını artırması ve PLGA'nın bozunmasını hızlandırmasıyla açıklanabilir. PLGA bozundukça polimerik kaplama üzerinde oluşmaya başlayan kristal yapıların da, tabaka tabaka erozyona uğradığı düşünülmektedir.

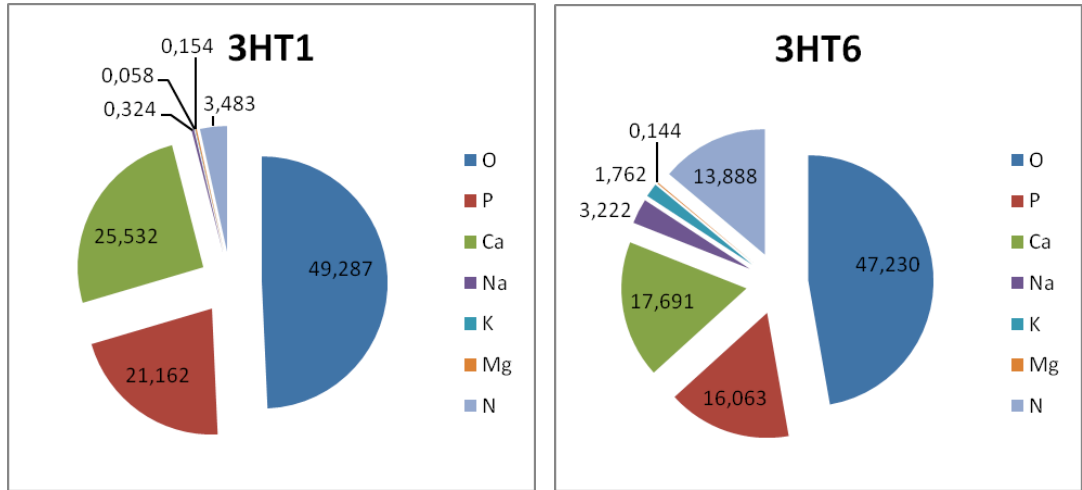


Şekil 3.19. 3. Haftalık dönemde kontrol stenti yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre dağılımları.

Kontrol örneği üzerinde oluşan taş miktarları karşılaştırıldığında beklenildiği gibi zamanla stent üzerinde oluşan kristallenmenin arttığı, özellikle üçüncü haftada önemli bir artış meydana geldiği görülmektedir. Bu da taş oluşumunun kateter yüzeyinde bir tabaka meydana geldikten sonra hızla arttığını ve polimer yüzeyine oranla enkrustasyon için çok daha uygun bir ortam haline geldiğini göstermektedir.

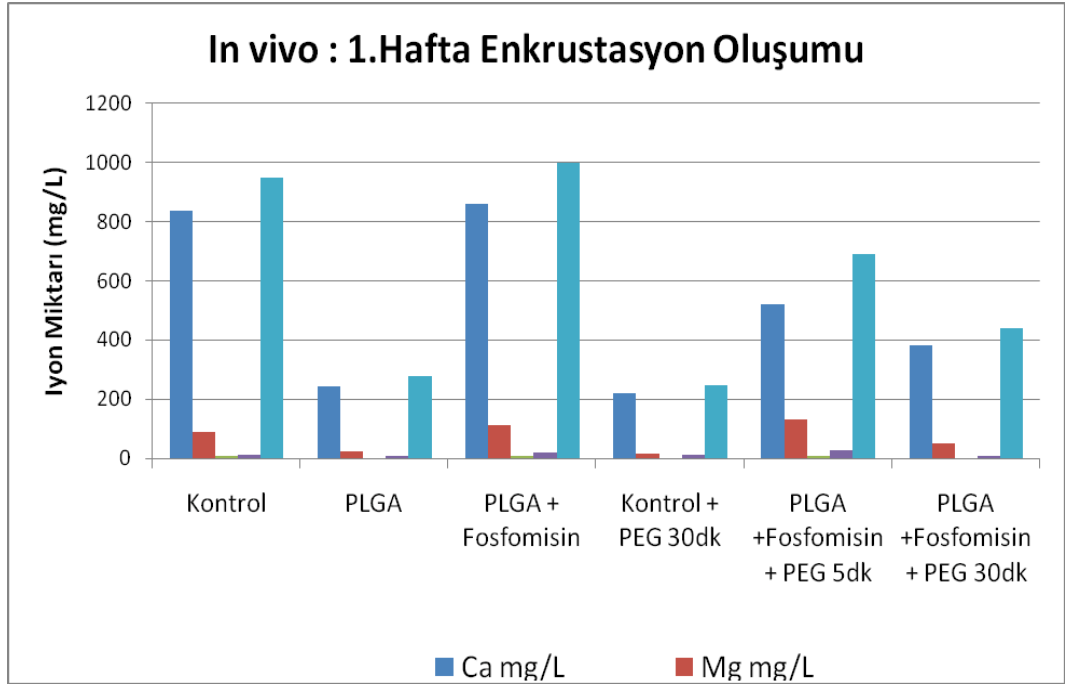
Çizelge 3.2. Kontrol ve modifiye stent yüzeyinde 3. Hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi

EDX ANALİZİ								
	O	P	Ca	Na	K	Mg	N	Toplam
3HT1	49,287	21,162	25,532	0,324	0,058	0,154	3,483	100,000
3HT6	47,230	16,063	17,691	3,222	1,762	0,144	13,888	100,000



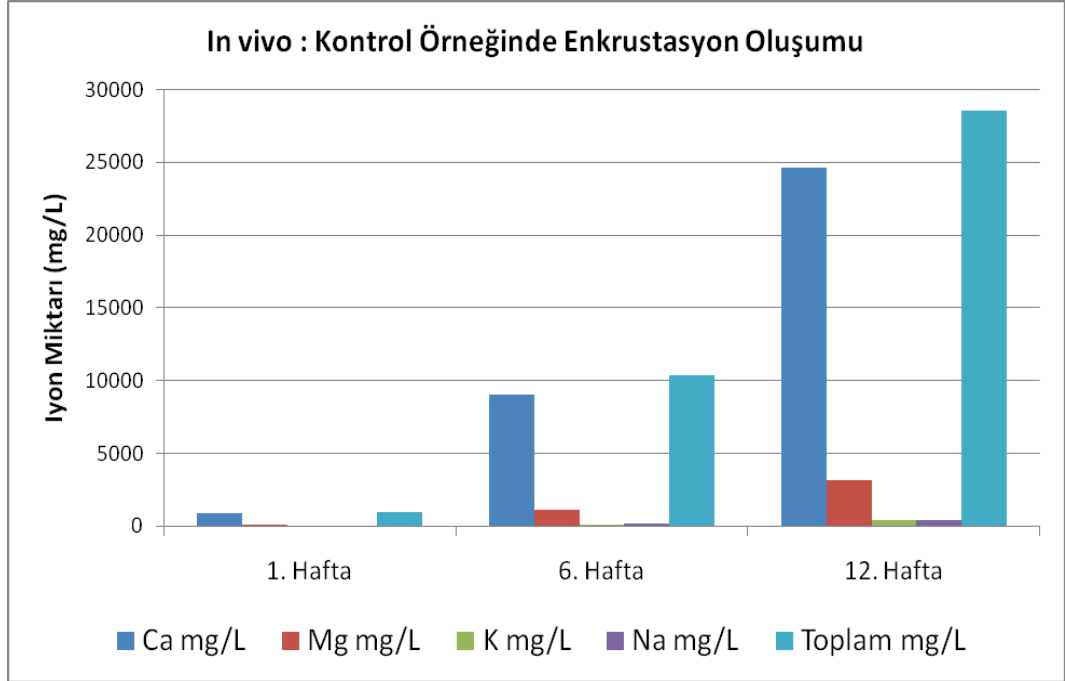
Şekil 3.20. Kontrol ve PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 3. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı

3.5.2. In Vivo Enkrustasyon Oluşumu



Şekil 3.21. 1. haftalık dönemde kontrol stenti ve modifiye edilmiş stentlerin yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre dağılımları.

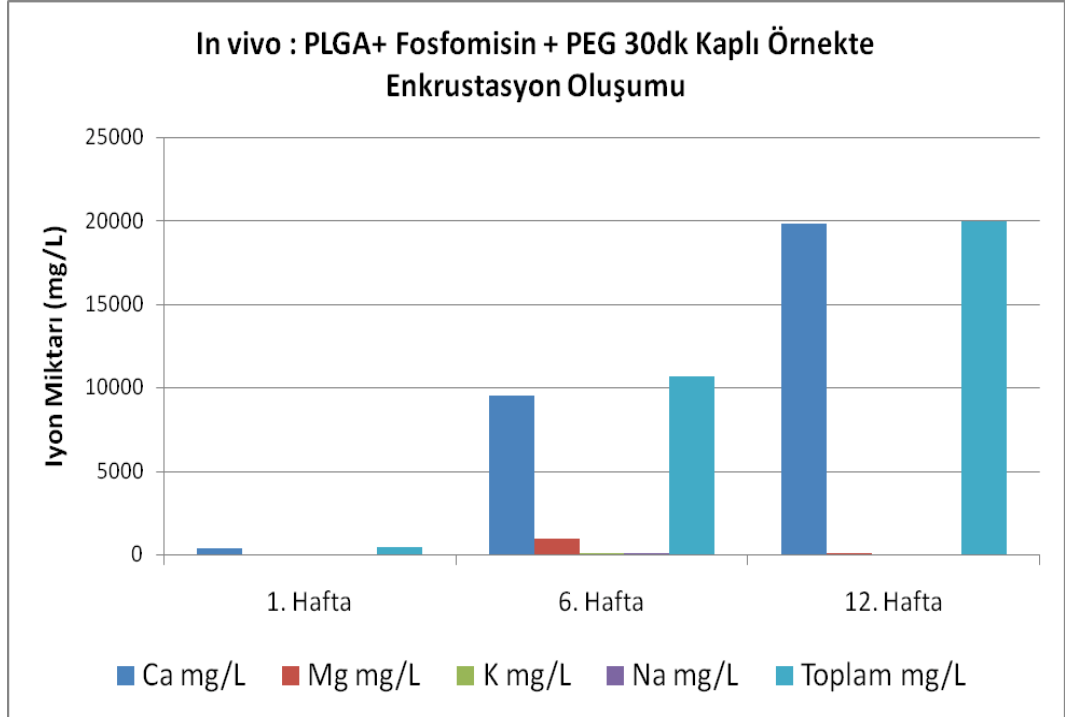
Fosfomisin içeren PLGA ile kaplanan stent üzerinde oluşan taşlaşmadaki artışın, fosfomisin'in yüzeyde oluşturduğu pürüzlülüğe bağlı olarak bakteri ve kristallerin tutunması ile oluştuğu düşünülmektedir. Bu yüzeyin plazma polimerizasyonu ile PEG kaplanması sonucunda daha pürüzsüz bir hal aldığı ve buna bağlı olarak iyon yükünde azalma olduğu tespit edilmiştir. Plazma polimerizasyon işlemi, 30 dakika süre ile daha yoğun bir polietilen glikol kaplaması gerçekleştirilen stent yüzeyinde; idrar ortamında iyon birikiminin daha da azaldığı diğer stentlerle karşılaştırıldığında ise en az seviyede olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.22. Kontrol stenti yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre zamana bağlı dağılımları.

Kontrol örneği üzerinde oluşan taşlaşma miktarlarındaki artış, *in vitro* enkrustasyon deneyleriyle karşılaştırıldığında çok daha belirgin bir şekilde yükselmektedir. Bu durum daha önce de değinildiği üzere kateter yüzeyindeki taş oluşumunun bir tabaka meydana geldikten sonra yüzey özellikleri ve kimyasal yapı açısından taş oluşumunu daha da tetiklemesi olarak açıklanabilir (Şekil 3.22).

Fosfomisin içeren PLGA ile kaplandıktan sonra 30dk PEG ile kaplanan stentlerdeki iyon birikimi kontrol örneği ile karşılaştırıldığında ilk hafta sonunda %50 az iyon gözlenirken 12. hafta sonunda aradaki fark %20'lere gerilemiştir. Bu durum birinci haftadan sonra kateter yüzeyinde enkrustasyon oluşumunda önemli bir artış olmasına bağlanabilir. Kateter yüzeyinde tabaka halinde taş oluşumu gerçekleştikten sonra kateter yüzeyine kaplanan polimerik materyalin ve antibiyotik etken maddenin önemi kalmamaktadır.

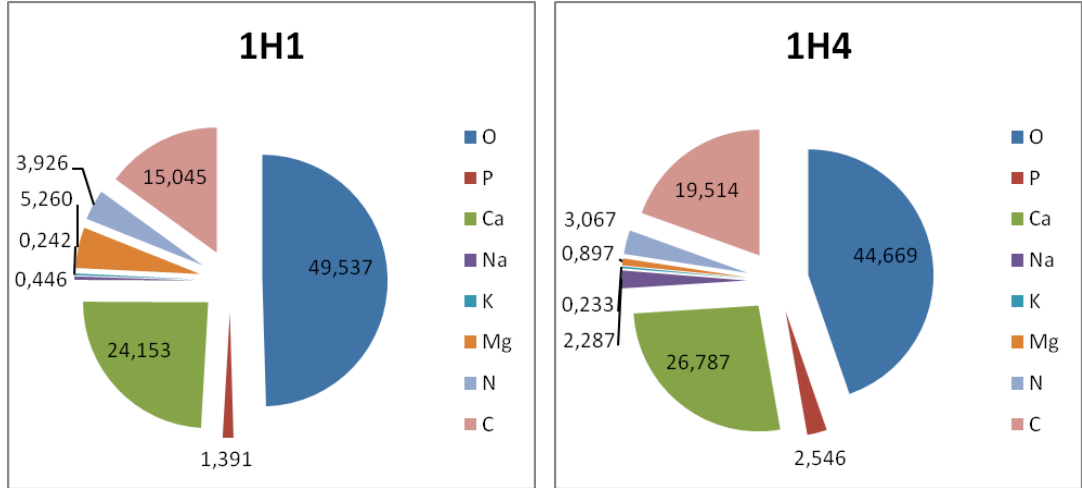


Şekil 3.23. PLGA + fosfomisin + 30dk PEG kaplanmış stent yüzeyinde oluşan enkrustasyon miktarlarının kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve toplam miktarlarına göre zamana bağlı dağılımları.

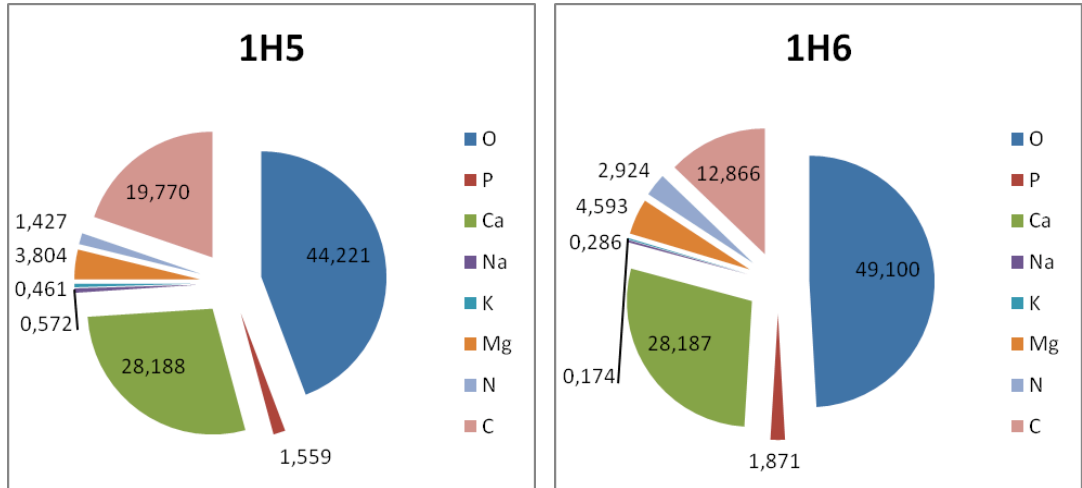
3.6. EDX Analizi

Çizelge 3.3. Kontrol ve modifiye stent yüzeyinde enkrustasyon oluşumunun EDX analizi

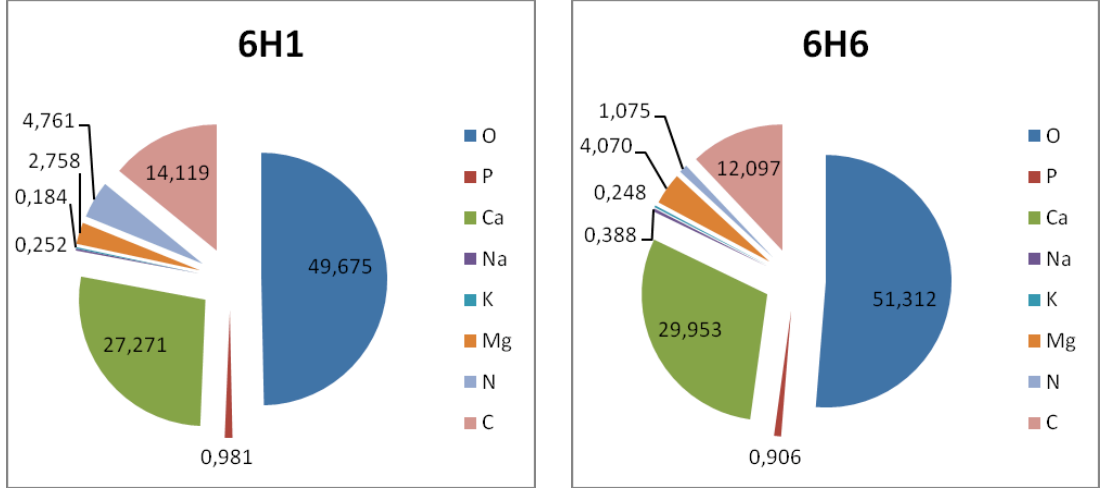
EDX ANALİZİ									
	O	P	Ca	Na	K	Mg	N	C	Toplam
1H1	49,537	1,391	24,153	0,446	0,242	5,260	3,926	15,045	100,000
1H4	44,669	2,546	26,787	2,287	0,233	0,897	3,067	19,514	100,000
1H5	44,221	1,559	28,188	0,572	0,461	3,804	1,427	19,770	100,002
1H6	49,100	1,871	28,187	0,286	0,174	4,593	2,924	12,866	100,001
6H1	49,675	0,981	27,271	0,252	0,184	2,758	4,761	14,119	100,001
6H6	51,312	0,906	29,953	0,388	0,248	4,070	1,075	12,097	100,049
12H1	48,478	0,848	30,658	0,262	0,282	3,942	4,141	11,390	100,001
12H6	46,855	1,022	23,277	0,171	0,218	1,776	8,789	17,892	100,000



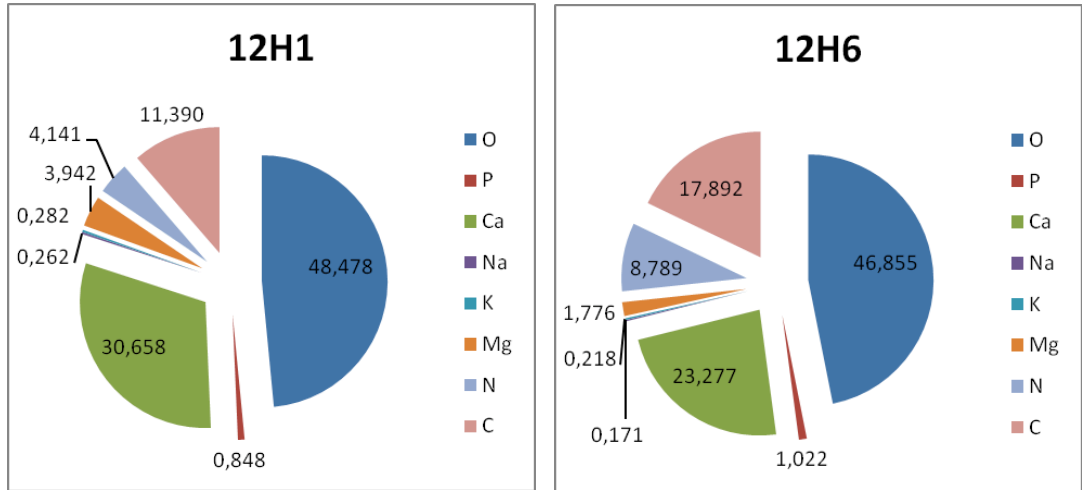
Şekil 3.24. Kontrol ve PEG kaplı stent yüzeyinde 1. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı



Şekil 3.25. 5dk ve 30 dk PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 1. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı



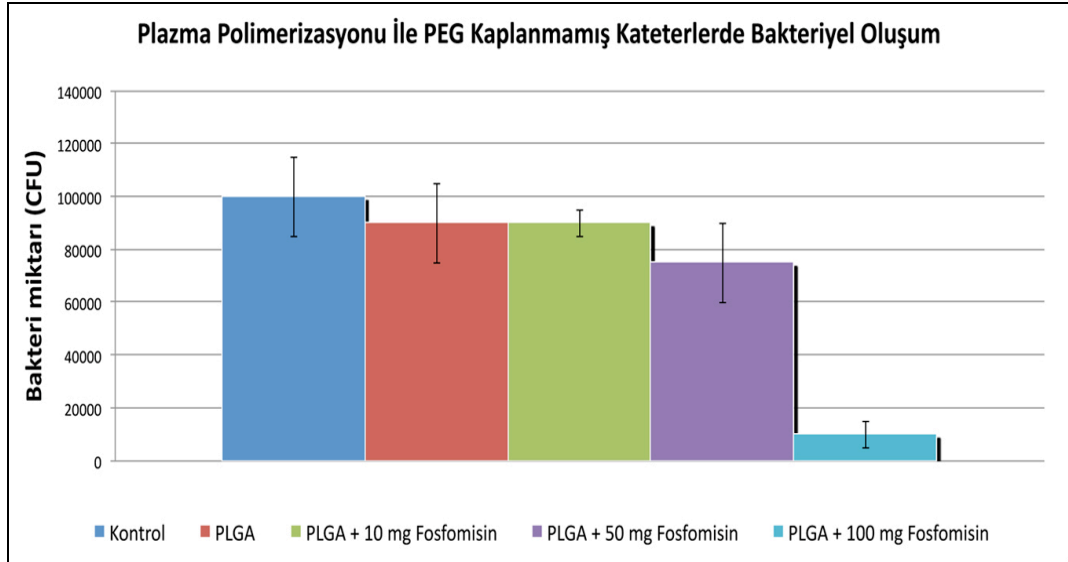
Şekil 3.26. Kontrol stenti ve 30 dk PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 6. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı



Şekil 3.27. Kontrol stenti ve 30 dk PEG kaplı fosfomisin yüklü PLGA kaplanmış stent yüzeyinde 12. hafta sonunda enkrustasyon oluşumunun EDX analizi dağılımı

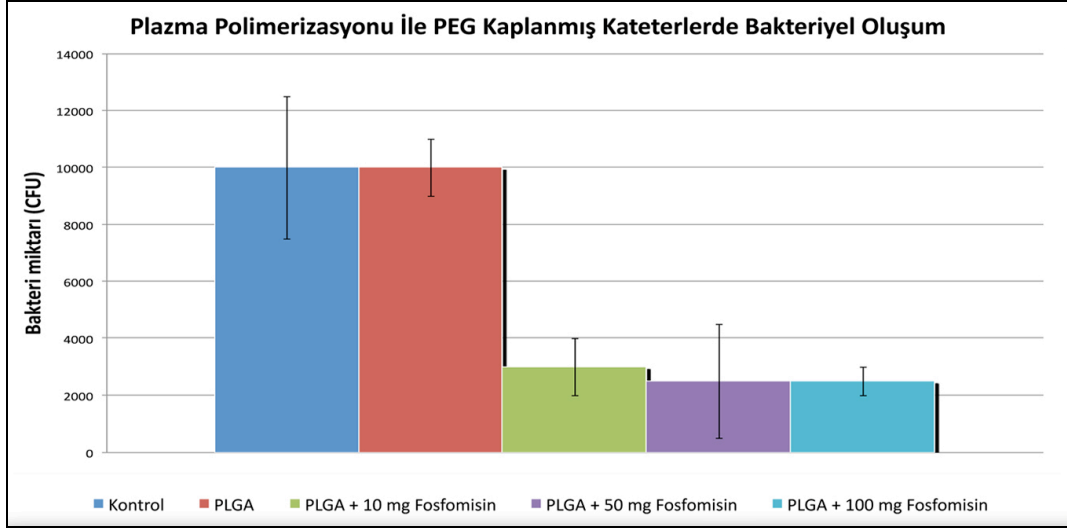
3.7. Bakteriyolojik İncelemeler

3.7.1. *In Vitro* Bakteriyolojik İnceleme



Şekil 3.28. Polimerik kaplamanın ve yüklenen fosfomisin miktarının hücre yapışmasına etkisi

Yapılan *in vitro* deneyler sonucunda EMB besi ortamında alınan sonuçlar plazma polimerizasyonu ile PEG kaplanmamış stentlerde; kontrol stentleriyle karşılaştırma yapıldığında poli(DL-laktid-ko-glikolit) polimeri kullanılarak hazırlanmış olmasının bakteri adhezyonunda yaklaşık %20'lik bir azalma gözlenmesi seçilen polimerin avantaj sağladığını göstermektedir. Ancak kontrollü salımı hedeflenen ve etken madde olarak seçilen fosfomisin miktarının 10 mg ya da 50 mg olması kullanılan *E.coli* bakterisi için eşik değere ulaşmamış olması nedeniyle, iki örnek arasında bakteri adhezyonu bakımından belirgin bir fark görülememiştir. Aynı parametrelerle hazırlanan fakat fosfomisin miktarı 100 mg'a çıkartılmış olan stentte ise bakteri adhezyonunun infeksiyon miktarının çok altına inmesi ve neredeyse sıfıra yaklaştığının görülmesi etken maddenin eşik değeri aştığını ve tedaviye yönelik miktara yakın olduğunu kanıtlamaktadır.



Şekil 3.29. Plazma polimerizasyonu ile polietilen glikol kaplanmış örneklerde polimerik kaplamanın ve yüklenen fosfomisin miktarının hücre yapışmasına etkisi

Plazma polimerizasyonu ile PEG kaplanmış kateterlerde bakteriyel oluşuma bakıldığında, plazma polimerizasyon işlemi uygulanmayan kateterlere oranla %90 bakteriyel adhezyonu baskıladığı gözlemlenmiştir. Uygulanan polietilen glikol kaplaması Bölüm 3.3’de belirtildiği gibi yüzeyin yüksek hidrofilik özellik kazanmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte kontrol örneği ve sadece polimerle hazırlanan stentte aynı miktarda bakteri adhezyonu gözlenmesi, morfolojik açıdan daha pürüzsüz bir yüzey oluşturmanın tek başına bakteri adhezyonunu önlemede yeterli olmadığı hidrofilik ve hidrofobik karakterin de etkili olduğunu ortaya koymuştur.

Fosfomisin içeren PLGA kaplı stentlerin plazma polimerizasyonu yöntemiyle polietilen glikol kaplanması E.coli’nin bakteriyel adhezyonu üzerinde %90’ın üzerinde inhibisyon sağlamıştır.

3.7.2. *In Vivo* Bakteriyolojik İnceleme

İnvitro bakteriyolojik incelemede 100 gr fosfomisin içeren PGLA çözeltisi içerisine daldırılarak kurutulan ve sonrasında PEG ile plazma polimerizasyon sistemi ile kaplanan stentler kullanılmıştır. Bunun sebebi in vitro sonuçlarda 100 mg fosfomisin kullanılan stentlerin bakteri adhezyonunu önemli ölçüde baskılaması ve 10 ve 50 mg fosfomisinin dozaj açısından yeterli olmayacağının düşünülmesidir.

İn vivo çalışmalar sonucunda stentler'in endoskopik veya açık cerrahi ile çıkarılarak yapılan bakteriyolojik incelemelerinde EMB ve kanlı agarda yapılan ekimlerde üreme tespit edilememiştir. Bu durum dikkat çekici olup sistoskopik prosedür sırasında kullanılan kayganlaştırıcı ve dezenfektan özellikleri bulunan Cathagel kateter jelinin flora bakterilerinin ortama karışmasını baskıladığı düşünülmüştür. Açık cerrahi işlem uygulanan 12 haftalık gruptan alınan örneklerde oluşan taşlar kırılarak bakteriyel testler için örnekler alınmıştır. Bu örnekler üzerinden yapılan ekimlerde de üreme gözlemlenmemiştir. Farklı hayvanlardan farklı örnekler alınması ve farklı zamanlarda örnek alınması deneylerde örnek eksikliğinin ya da metod hatasının olmadığını düşündürmektedir. Altı ve oniki haftalık örneklerin inkübatörde 48 saat boyunca inkübasyona bırakılmasına rağmen üreme gözlenmemiştir.

Sonuç olarak üretradan mesaneye giriş yapıldığı halde üretrada bulunan ancak patojen olmayan ve mesaneye taşındığında enfeksiyona sebep olacak bakterilerin stent veya yöntem aracılığıyla mesaneye aktarımı sterilizasyona da gerekli önemin verilmesi sayesinde tarafımızca engellenmiştir. Bu sebeple modellerimize yerleştirilen stentlerin hiçbirinin yüzeyinde bakteriyel etkinlik tespit edilememiştir.

4.TARTIŞMA

Üroloji pratiğinde sık kullanılan double j üreteral stentlerin ciddi komplikasyonları olmadığı yönünde genel bir görüş olmasına rağmen, erken ve geç dönem komplikasyonları bildirilmektedir(Kadioğlu ve ark, 1998).

Bu komplikasyonlar arasında bulunan fakat göz ardı edilen komplikasyonların başında stentin bakteriyel kolonizasyonu gelmektedir. Bu kolonizasyona bağlı olarak disfonksiyon, doku intoleransı, ağrı, subklinik veya klinik infeksiyon ve hatta sepsis ve sepsise bağlı ölüm görülebilmektedir (Riedl ve ark, 1999).

Üriner sistem, nazokomiyal infeksiyonların en sık görüldüğü bölgedir (Tenke P ve ark, 2004). Nazokomiyal üriner sistem infeksiyonlarının yaklaşık %80'i ürolojik aletli girişim sonucu gelişmektedir. En sık görülen sebebi ise mesaneye konulan kateterlerdir (Warren ve ark 1988).

Üreteral stentlerin kullanımının artması ile stente bağlı infeksiyonların sıklığı da artmıştır. Stente bağlı infeksiyonların patogenezinde bakteriyel kolonizasyon önemli rol oynar. (Paick ve ark 2003). Yüksek kolonizasyon oranlarına rağmen klinik infeksiyon ender görülmektedir. Ayrıca, idrar kültürü ile bakteriyel kolonizasyonun tanımlanmasının çok güvenilir olmadığı bildirilmiştir (Riedl ve ark, 1999).

Double j stentlerde kolonizasyonla ilgili yapılan çalışmalarda; Farsi ve ark stentlerde bakteriyel kolonizasyonu %67.9, bakteriüri prevalansını % 29.9 olarak bildirmişlerdir. Stentin polimer yapısına göre kolonizasyonun farklı olduğunu, poliüretan stentte %100, silikonda %62.6, ürosoftta %56 ve c-flex stentte %55.5 kolonizasyon tanımlamışlardır (Farsi ve ark 1995).

Fosfomisin kaplı stentler ile yaptığımız *in vitro* çalışmalarda *E coli* ortamında inkube edilen stentler üzerinde kolonizasyonun %90 oranına kadar

baskılandığı tespit edilmiştir. *In vivo* çalışmalarda ise 12 haftalık takip süreleri sonunda yapılan kültür ve elektron mikroskopik incelemelerde fosfomisin kaplı ve kaplı olmayan stentler üzerinde gerekli aseptik şartların sağlanması durumunda bakteri kolonizasyonunun oluşmadığını tespit edilmiştir.

Riedl ve ark ise kalıcı stentlerde %100 oranında bakteriüri ve kolonizasyon saptarlarken, geçici stentlerde %69 stent kolonizasyonu, % 24.1 bakteriüri saptamışlardır(Riedl ve ark, 1999). Bir stent konulduktan 1 gün sonra kolonizasyon gösterirken bakteri olmayan ve 38. günde çıkarılan stentler de olduğunu, bunun da kolonizasyonun yaş, cinsiyet, morbidite ve immünolojik duruma da bağlı bulunduğunu, ancak kalış süresi uzadığında % 100 kolonizasyon oluştuğunu bildirmişlerdir (Riedl ve ark, 1999). Ayrıca, idrar kültürünün üreteral stentteki bakteriyel kolonizasyonu güvenilir göstermediğini ve antibiyotiklerin bakteriyel kolonizasyonu engellemediğini ifade etmişlerdir (Riedl ve ark, 1999).

Paick ve ark ise stent kolonizasyonunu %44, bakteriüri insidansını da %21 bulmuşlardır. Ayrıca, iki haftalık süreden sonra stent kolonizasyonunun başladığını bildirmişler ve iki haftalık kısa süreli antibiyotik kullanımının anlamsız olduğunu belirtmişlerdir (Reid ve ark,2001; Paick ve ark 2003).

Çalışmamızda *in vivo* ortamda bakteri kolonizasyonunun elektron mikroskopik inceleme ve stent kültür çalışmaları ile tespit edilmemesine rağmen, taşlaşmanın oluştuğunu tespit ettik.

In vitro çalışmalarda yaklaşık 3 hafta süre ile yeterli antibiyotik etkisi için fosfomisin salımının geliştiği, sonrasında ortama salacak antibiotik yükünün stent üzerinde kalmadığını tespit ettik. Bu durum olmasına rağmen 6 hafta ve 12 haftalık *in vivo* stent takiplerinde, ortamdan alınan numunelerin yapılan kateter kültür çalışmalarında üreme tespit edilememiştir.

Antibiyotik kaplı stentlerde iyon yükünün kaplı olmayanlara göre az olduğu, fakat idrarla temas süresinin uzamış olmasının bunu ters yönde etkilediğini

tespit ettik. Bunun yanında kaplama materyallerinin ve işleminin farklılığına göre stentlerin iyon yükü farklılık göstermektedir.

Riedl ve Farsi, çalışmalarında en sık rastlanan bakterilerin *Staphylococcus epidermidis* ve diğer Gram (+) koklar olduğunu, fakat bu bakterilerin büyük olasılıkla üretral kontaminasyon yoluyla oluştuğunu ifade etmişlerdir (Farsi ve ark., 1995; Riedl ve ark., 1999). Paick ve ark. ise en sık enterokok ve *E. coli*'yi izole etmişlerdir (Paick ve ark 2003). Yayınlarla göre rutin verilen antibiyotik kolonizasyonu azaltmamaktadır. Antibiyotik, klinik olarak saptanan infeksiyonlarda, immün yetmezlik durumunda ve ileri değerlendirme yapılacak hastalara ve sık saptanan bakterilere, *Enterococ*, *E. coli* ve *Staphylococcus*'a, yönelik verilmelidir (Farsi ve ark., 1995; Lifshitz ve ark., 1997; Riedl ve ark,1999). Paick ve ark ise (2003) 2 haftadan kısa süreli antibiyotik kullanımının anlamsız olduğunu belirtmektedirler. *In vivo* ve *in vitro* yapılan bazı çalışmalara göre yeni biyofilm tabakasının oluşmasını ve yayılmasını beta laktam ve aminoglikozidlerin önlediği gösterilmiş, diğer bir çalışmada ise aynı etkinin florokinolonlarla da görüldüğü, ilaveten tedavi sonrası bir veya iki hafta sonra tekrar biyofilm tabakasının oluştuğu gösterilmiştir (Kumon, 1996; Morris ve ark. 1999).

Çalışmamızda biyofilm aktivitesini yaratacak bakteri varlığını tespit etmememize rağmen taşlaşmanın oluştuğunu, uzun süre kalan kateterlerde bunun kaplama çeşidi ve antibiyotikten bağımsız olarak gerçekleştiğini tespit ettik. Bu durumda taşlaşmayı önlemek amacıyla antibiotik kullanımının gerekli olmadığını tespit ettik. Enfeksiyonun önlenmesi için stent takılması sırasında yeterli asepsi kurallarına uyulması durumunda, antibiyotik kullanılmasına gerek olmayacağını, dolayısı ile aşırı antibiyotik kullanımı ve bakteriyel direnç gelişiminin önlenmesinde yararlı olacağı düşünülmektedir.

Bakteriyel kolonizasyonu azaltmak için son yıllarda, antibiyotik ve bakterisidle kaplı kateterler gündemdedir. (Lundeberg, 1986) Bakterilerin yapışmasını önlemek amacıyla nitrofurantoin, gümüş, fosforil kolin ve heparin kaplı double

j kateterler kullanılmış, bakterisid etkileri gösterilmiş ve enkrüstasyonlar azalmıştır (Liedberg ve Lundeberg,1993; Hildebrandt ve ark., 1997 Al-Habdan ve ark., 2003,).

Biz de çalışmamızda fosfomisin etken maddesi ile kaplı stentler oluşturduk. Stentlerden ortama yeterli oranlarda fosfomisin salındığını tespit ettikten sonra *in vivo* ve *in vitro* olarak taşlaşma ve infeksiyon oluşumundaki etkinliğini araştırdık. Fosfomisin kaplı stentlerin *in vitro* ortamda yeterli bakteriyal inhibisyonu yaptığını tespit ettik. *In vivo* tavşan çalışmamızda ise alınan idrar örnekleri ve kateter yüzeyinin kalitatif ve kantitatif bakteri tanımlama çalışmalarında bakteri izole edemedik. Buna karşın zamana bağlı olarak 12 hafta süre tavşan mesanesinde kalan stentlerin tüm yüzeyini kaplayan, bir ve altı hafta süre kalanlarda daha az oranlarda taşlaşma tespit ettik. Elektron mikroskopik görüntülerde taş kristalizasyonları izlendi fakat bakteri ve kolonizasyonla uyumlu görüntü tespit edilemedi. Bu durum antibiyotik kaplı stentlerin bakteriyal kolonizasyonu azatlığının bildirilmesi, bizim çalışmamızda hiç kolonizasyon ve kültürde bakteri tespit edilmemesine rağmen; taşlaşmanın olmasını; taşlaşmanın daha çok yüzey kaplama maddesi ve pürüzsüzlük özelliğine bağlı olarak geliştiğini göstermiştir. Antibakteriyal aktivite taşlaşma oranında belirgin azalmaya sebep olmakta, fakat tamamen önlemede yetersiz bir özellik olduğu tespit edilmiştir..

Triklosan ile yapılan çalışmalarda *E.faecalis* ve *P.aeruginosa*'nın rezistansının arttığı gösterilmiştir. Düşük konsantrasyonda triklosanın İYİ de önemli virulans faktörü olan *E.coli*'ye etkisi azalmaktadır. Triklosan kaplı stentler kontrol stentlerine göre önemli derecede bakteri yapışma seviyelerini düşürmektedir. Stentten salınan triklosan stente bağlı üriner sistem enfeksiyonunu ve enkrüstasyonu azalmaktadır. Bu stentler üriner sistem drenajının sağlanması yanında lokal antibiotik etkiside sağlarlar (Jones ve ark., 2005, Chew ve ark., 2006).

Karbon kaplı stentlerde *in vitro* yapılan çalışmalarda kaplama kalınlığı artıkça yüzeyde engebeleşme artmakta ve bakterilerin yapışabilmesine neden olmaktadır. Az hidrofobik yüzey oluşturularak mikrobiyal yapışma ve taşlaşmaya direncin arttığı izlenmiştir (Jones ve ark, 2006). Bizim çalışmamızda fosfomisin partiküllerinin kaplama yüzeyinde çıkıntı yaptığı bunun ise plazma yöntemi ile daha aza indirilerek daha hidrofilik bir yüzey oluşturulduğu tespit edilmiştir. Kullanılan antibakterial maddenin stent yüzeyinde yaptığı pürüzlülük, plazma yöntemi ile PEG kaplama yapılarak azaltıldığı, stent üzerinde daha az iyon yükü oluştuğu tespit edilmiştir.

Laube ve ark.'nın karbon kaplı stentlerle yaptığı *in vivo* çalışmada, taşlaşmaya çok meyilli 10 adet hasta incelenmiş, sonuçta stentler çıkartılırken yapılan sistoskopik işlem sırasında daha az taşlaşma olduğu tespit edilmiştir (Laube ve ark, 2007). Bu yöntemdeki hastalar göreceli olarak taş oluşmaya meyilli grup olarak adlandırılmış olup stentlerin çıkarılma işlemi sırasında görsel olarak iyon ve taşlaşma miktarı tespit edildiğinden bir standartlık olmadığı düşünülmektedir.

Tenke ve ark. bir pilot çalışmada ise normal poliüretan ile heparin kaplı olanları karşılaştırmış, altı ay süre sonra heparin kaplı olanlarda biyofilm tabakasına rastlamamışlardır (Tenke ve ark., 2004). Bu durum bizim çalışmamız sonuçlarında değindiğimiz aseptik şartlar sağlanarak takılan işlemlerde; yüzey pürüzsüzlüğünün, hidfolitesinin artırılması ile biyofilm oluşumunun engellenebileceği bulgumuzu desteklemektedir.

Üreteral stentlerin kullanımının artması ile komplikasyon ve morbidite oranlarının da artması, giderek önemli bir yer oluşturmaya devam etmektedir. Diğer tıp dallarında da kullanılan stentlerin uzun ömürlü olması, buna karşın minimal morbidite oranlarına sahip olması için de çalışmalar sürmektedir. İstenmeyen yan etkiler; infeksiyon, kalsifikasyon, stent migrasyonu, hidronefroz ve fragmantasyondur. Ringel ve arkadaşları, hastaların ortalama %32,7'sinde üreteral double j stentin geç istenmeyen yan etkilere bağlı olarak

çekildiğini bildirmişlerdir. Bu istenmeyen yan etkiler %10 hastada stent fragmentasyonu, %8,2'sinde stent migrasyonu, %9,1'inde üriner enfeksiyon ve % 5,4'ünde değişmeyen veya daha kötüleşen hidronefroz şeklinde bulunmuştur(Ringel ve ark., 2000).

Kateterizasyon süresi ve enfeksiyon varlığı, taş hastalığı olmaksızın enkrüstasyona neden olabilmektedir. Burada bakteriyel üreaz tarafından uyarılan bir fenomen sorumlu tutulmaktadır. *In vivo* olarak yapılan çalışmalarda, enkrüstasyonun üreaz enzimleriyle indüklenen kristalizasyonla oluştuğu gösterilmiştir (Cox ve ark 1987). Bu durum taş oluşma mekanizmalarından biri olup ortamda bakterial aktivitenin engellenmiş olmasına rağmen stent üzerinde taşlaşma oluşumunu açıklayamamaktadır. Stent üzerindeki taşlaşmanın oluşmasında enfeksiyon ve metabolik taş hastalığı dışında başka etkenlerinde etkili olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda bu etkenlerin, stent yüzeyindeki pürüzsüzlük ve hidrofilitenin azalmasına bağlı olarak enkrüstasyonu arttırdığı tespit edilmiştir.

Bununla beraber, double j stent enkrüstasyonlarının sıklıkla steril idrarda da meydana geldiği saptanmıştır. Bu kristallerin oluşumuna idrarın ve stentin yapı maddesi olan polimerlerin fizikokimyasal özelliklerinin katkı yaptığı bildirilmiştir (Holmes ve ark.,1992).

Stentler, genel olarak poliüretan, polietilen ve silikon malzemeler kullanılarak yapılmaktadır. Silikondan yapılan stentler daha uzun süreler vücutta tutulabilirken, poliüretan ya da polietilenden yapılmış stentlerin en geç sekiz haftada bir değiştirilmesi gerekmektedir (Singh ve ark., 2001). Silikon yapıli üreteral stentler, daha az komplikasyon riskine sahip olmakla birlikte, düz ve pürüzsüz dış yüzeyi nedeni ile daha yüksek oranda, aşağı ya da yukarı doğru kaçabilmektedir (Monga ve ark., 1995; Richter ve ark., 2000). Üreteral stentlerde nadir olarak saptanan içeriden ya da dışarıdan kabuklanma, ciddi klinik tablo ya da komplikasyonlara neden olabilmektedir. (Somers, 1996).

Unutulan veya normalden uzun süre yerinde bırakılan double j stentlerde lümen içinde ya da dışında meydana gelen kabuklanmaların etiyolojisinde, alkali idrar ile birlikte idrar yolu infeksiyonları, kalsiyum fosfat ve sitrövit birikiminin rolü olduğu ileri sürülmektedir. Fonksiyonel olarak tamamen normal bir üretere, double j üreteral stent yerleştirilirse, kısmi obstrüksiyon oluşabilir. Normal bir üretere yerleştirilen double j üreteral stentin etrafındaki idrar akımının lümenin içinden geçen idrar akımına oranı, %60/40'dır Bu nedenle, üreteral double j stent yerleştirilmiş hastalarda oluşabilecek stent etrafındaki tıkanıklık, stent içinde oluşan tıkanıklığa oranla, daha ciddi bir obstrüksiyona neden olabilmektedir (Zisman ve ark., 1995; Singh ve ark., 2001.) İdeal, biyouyumlu stent hammaddesinin geliştirilmesine kadar stentler üzerine kaplama çalışmalarının ve tartışmalarının devam edeceğini düşünüyoruz.

Double j stentler yaygın bakteri kolonizasyonuna neden olmaktadır. Bunu tespit etmek için her zaman idrar kültürü belirleyici değildir. Kolonizasyonun 1. günde başladığı, kalıcı stentlerde ise %100'e ulaşması ve kolonizasyonun ciddi rahatsızlıklara da neden olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Yaygın olarak üroloji pratiğinde kullandığımız antibiyotik olan kinolonların biyofilm tabakasına kısa süreli etki etmesi ve 1-2 hafta sonra biyofilm tabakasının tekrar oluşması, stentlerde rutin antibiyotik kullanımının terk edilmesinin gerektiğini, ancak risk grubu altındaki hastalarda kullanılmasının uygun olacağını bize göstermektedir. Son yıllarda antibiyotikli ve bakterisidli kateter kullanımının artmasından da faydalanarak stent kolonizasyonunun önlenmesi veya en aza indirilmesi için stentlerin bu yöneme göre modifiye edilmesi akla yatkın görülmektedir. Uygulama nedenine ve doktorun tecrübesine bağlı olarak stentin kalış süresi belirlenir. Üreteral double j stentlerin kullanım ömründen daha uzun süre vücutta bırakılması geç dönem istenmeyen yan etkilere yol açar(Ringel ve ark., 2000).

Üriner sistem taş hastalığı olan hastalarda, taş oluşumu etyolojisinde infeksiyon taşı olan hastaların, tedavi ve takiplerinde antibiyotik kaplı

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kateterlere bağlı infeksiyon ve taşlaşmanın önlenmesi çalışmaları üroloji pratiğinde önemli bir yer oluşturmaktadır. Bu alanda yapılan stentlerin yüzeyleri kaplanarak ideal stent üretimine yönelik çalışmalar, yeni ve bakteriyel inhibisyon açısından daha etken maddeler üretildiği sürece devam edecektir.

Bizim çalışmalarımızda bazı literatürdeki çalışmaların da desteklediği şekilde ortamdan bakteri izole edilmese bile stent üzerinde taşlaşma oluşmaktadır. Bu durum taşlaşma ile bakteri varlığının arasındaki ilişkinin zorunlu olmadığını, ikisinin birbirinin potansiyelini arttırabileceği, buna karşın bakteri yokluğunda da taşlaşmanın gözlenebileceğini göstermektedir.

Çalışma sonuçları taşlaşma ve biyofilm tabakası oluşumunda patogenezin tek başına da oluşabileceğini gösterdi. Stent uygulamalarında aseptik şartlarda çalışılması durumunda antibiyotik kullanımının şart olmadığı düşünülmektedir. Fosfomisin kaplı stentlerin üç haftaya kadar süren salım profilleri biyofilm tabakasını önleyecek yeterli antibiyotik etkiyi idrar ortamında oluşturmuştur.

Daha önce yapılan çalışmalarda böyle bir tavşan modelinin kullanılmamış olması sistoskopik olarak numunelerin yerleştirilip çıkarılması işleminde yenilik ve kolaylık getirmiştir. Diğer etken maddelerle yapılan çalışmalarda bu kadar uzun süreli takip uygulanmamış, kısa süreli (1 hafta) taşlaşma ve bakteri oluşumları incelenmiştir.

Sunulan çalışmanın uzun süreli stent uygulamasını model alması, taşlaşma ve *in vitro* bakteriyolojik sonuçlar arasında önemli farklılık olduğunu göstermiştir.

Bu alışmalar aşırı yoğun tavşan mesane ortamında gerçekleştirilmiştir. İnsan alışmaları yapıldığında, taşlaşma oranlarının daha az seviyelerde olabileceğini dūřünmekteyiz. Bu yönden faz III çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaplama materyalinin kompozisyonuna bağlı olarak, yüzey hidrofilisitesinin önemli derecede değiştiği, uygulanan kaplamanın etken madde salımı üzerinde etkili olduğu ve yüzey morfolojisindeki pürüzlülüğün bakteriyel ve/veya tař adhezyonunu etkilediği görölmüştür. En ideal koşullardaki kaplama ve antibiyotik yüklenmesiyle üreteral stentler üzerinde bakteriyel adhezyon ve enkrustasyonun önemli ölçüde azaltılabileceği dūřünülmektedir.

ÖZET

Fosfomisin Disodyum Kaplı Üreteral Stentlerin Sık Karşılaşılan Üropatojenlere ve Enkrustasyona Karşı Etkinliğinin İn Vitro ve İn Vivo Olarak İncelenmesi

Üreteral stentlerin kullanımı hastalık tedavi yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak hızla artmaktadır. Yaklaşık bir ile bir buçuk ay hastanın vücudunda kalan stentlerin neden olduğu önemli problemlerin başında infeksiyon ve enkrustasyon gelmektedir.

Stent yüzeyinde bakteriler tarafından biyofilm tabakası oluşumu saatler içerisinde gerçekleştirilmektedir. Enkrustasyon ve bakteri eradikasyonu oral antibiyotiklerle mümkün olamamakta ve bu nedenle stentin çıkarılması gerekmektedir. Bunun önlenmesi amacıyla çeşitli maddeler ile kaplanmış stentler daha önceki çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır. Bu çalışmalarda elde edilen bulgular, etken madde içeren özel kaplamalı stentlerin ideal koşullara ulaştığında etkin çözümü sağlayabileceği yönündedir.

Çalışma kapsamında bu alanda kullanılabilecek daha etkili ve direnç gelişimini önleyebilen biyoyumlu stent ve antibakteriyel maddeler araştırılarak, bakteriler üzerindeki MİK değerleri ile direnç gelişme oranı düşük, anti adhesiv etkisi ve idrar yollarına spesifitesi yüksek olan, gebelerde kullanma sınıfı B olan, ayrıca diğer organlarda bulunma veya tutulma oranı olmayan fosfomisin kullanılmıştır.

Sunulan çalışmada içerisine fosfomisin yüklenmiş poli(laktid-ko-glikolit) ile üzeri kaplanmış stentler ile bu stentlerin plazma polimerizasyon tekniği ile polietilen glikol kaplanmış formları hazırlanmıştır.

Bu çalışmada hazırlanan materyallerin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda morfolojik özellikleri, ilaç salım profilleri, antibakteriyel etkinlikleri ile enkrustasyon oluşumunu önlemedeki etkinlikleri karakterize edilerek klinik uygulamalarda kullanılabilirlikleri tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İdrar yolları infeksiyonu, stent, biyofilm, fosfomisin disodyum, enkrustasyon, PLGA, PEG.

SUMMARY

In Vitro and In Vivo Activity of Fosfomycin Disodium Loaded Ureteral Stents Against Common Bacterial Uropathogens and Encrustation

The use of urethral stents is rapidly rising with the development in disease treatment. The main problems related the use of stents, that are placed for one or one and a half month in patients body, are infection and encrustation.

Biofilm layers formed on the stent surface by bacteria, are consisting in a few hours. Encrustation and bacteria eradication is not possible with oral antibiotics and therefore stents need to removed. To prevent encrustation and infection, special coated stents has been used in various studies. According to results of this studies, in ideal conditions active material loaded special coated stents could be effective.

In this study, more effective and non-drug resistant stents and antibacterial agents are investigated, and fosfomycin with low MIC and drug resistance rates, anti-adhesive properties, high spesifity on urinary tract and B-Class pregnancy use, is selected as model drug.

Fosfomycin loaded poly(lactide-co-glycolide) coated stents and with by plasma polymerization technique, polyethylene glycol coated forms are prepared to prevent encrustation and infection.

In vitro and in vivo morphologic properties, drug release profiles, antibacterial efficiancy and effectivity on prevention of encrustation are characterized and capacities for use in clinical application are discussed.

Keywords : Urinary tract infection, Stent, Biofilm, Fosfomycin disodium, Encrustation, PLGA, PEG

KAYNAKLAR

- AFLAY U, AKAY AF, DELİKTAŞ H, ŞAHİN H, (2005). Double J stentli Hastalarda üriner sistem enfeksiyonunu belirlemede alt üriner sistem semptomlarının ve idrar analizinin değeri. Yeni Üroloji Derg, 1(2):109-113.
- AKDOĞAN E.C.D., AYDIN E., TAN E., MUTLU M. (2005). "Glow-Discharge Treated Polyethersulphone, Polycarbonate and Cellulose Acetate Ultrafiltration Membranes for Sugar Separation : Effect of Ethylenediamine and 2-Hydroxyethylmethacrylate as Precursors." Plasma Polymers and Related Materials, Hacettepe University Press, Ankara,
- AKMAN, M. A. (1993). Mechanical Properties of Plasma Surface Modified Calcium Carbonate/PP Composites. The Graduate School of Natural and Applied Science. Ankara, Middle East Technical University. M Sc.
- AKSARAY, S., DOKUZOĞUZ, B., GÜVENER, E., YÜCESOY, M., YULUĞ, N., KOCAGÖZ, S., ÜNAL, S., ÇETİN, S., ÇALANGU, S., GÜNAYDIN, M., LEBLEBİCİOĞLU, H., ESEN, Ş., BAYAR, B., WİLLKE, A., FINDIK, D., TUNCER, İ., BAYSAL, B., GÜNSEREN, F., MAMIKOĞLU, L. (2000). Surveillance of Antimicrobial Resistance Among Gramnegative Isolates from Intensive Care Units in Eight Hospitals in Turkey, Journal of Antimicrobial Chemotherapy **45** :695-699,
- AL-HABDAN I, SADAT-ALI M, COREA JR, A AL-OTHTMAN, (2003). Assessment of nosocomial urinary tract infections in orthopaedic patients: A prospective and comparative study using two different catheters. Int Surgery **88**: 152-54.
- AYYILDIZ A, ÇELEBİ B, TURGUT M., NUHOĞLU B., HURİ E., GERMİYANOĞLU C. (2005). Double j üreteral stentlerin komplikasyonları: Beş olgu ve retrospektif analiz. Osmangazi Tıp Dergisi 27, (1) ,
- BARRY A L ve FUNCHS P C (1991). In vitro susceptibility testing procedures for fosfomycin trometamine Antimicrob Agents Chemother. ; **35**(6): 1235-1238.
- BERGAN T, THORSTEINSSON SB, ALBINI E, (1993), Pharmacokinetic profile of fosfomycin trometamol. Chemotherapy, Oct. **39**: 297-301.
- BORIN J.F., TYSON D., SALA L. G., ABDELSHEDID C., LE T., NGUYEN A., MCDOUGALL E.M. , CLAYMAN R.V. (2005). Encrustation of Biomaterials in an in vivo Rabbit Model., P05B-12, A284. Endourology, **19**(1),
- CANAUD B. (1999). Haemodialysis catheter-related infection: time for action. Nephrol Dial Transplant; **14**:2288-2290,
- CAREDDU P, BORZANI, M SCOTTI, L VAROTTO F, GARLASHI L., FONTANA P. (1987). Treatment of lower urinary tract infections in children: single dose fosfomycin trometamol versus pipemidic acid. Chemotherapy; **6**: 290-294.

- CHEW B.H., CAIDEUX P.A., REID G., DENSTEDT J.D. (2006). In Vitro Activity of Triclosan Loaded Ureteral Stents Against Common Bacterial Uropathogens, J. Endourology, **20**(11): 949-958,.
- CLERI DJ, CORRADO ML, SELIGMAN SJ. (1980). Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. J Infect Dis **141**:781-786,
- CORTES R., PASCAUL T., LOU ARNAL S., OROZCO F., SUNYER DEU, L. (1992). Fosfomicina trometamol en dosis oral unica versus acido pipemidicoy norfloxacin en el tratamiento de la infecciones urinarias bajas no complicada. Atencion Primaria **10**: 1007-1012,
- COSTERTON JW, CHENG KJ, GEESEY GG, LADD T I , NICKEL J C, DASGUPTA M, MARRME T J. (1987); Bacterial biofilm in nature and disease. Ann Rev Microbiol **41**: 435-464,.
- COX AJ. HARRIES JE. HUKINS DWL., KENNEEDY AP (1987). Calcium phosphate in catheter encrustation Br J Urol **59**: 159-163.
- CROCHIOLO P. (1990). Single-dose fosfomycin trometamol versus multiple-dose cotrimoxazole in the treatment of lower urinary tract infections in general practice. Chemotherapy **36** (Suppl): 37-40,
- DENSTEDT JD, REID G, SOFER M. (2000). Advances in ureteral stent technology. World J Urol, **18**(4) 237-42.
- DOMB, A. J., M. ROCK, SCHWARTZ J, PERKIN C, YIPCHUK G, BROXUP B, VILLEMURE JG. (1994). "Metabolic disposition and elimination studies of a radiolabelled biodegradable polymeric implant in the rat brain." Biomaterials **15**(9): 681-8,
- DUVDEVANI M, CHEW BH, DENSTEDT JD (2006). Minimizing symptoms in patients with ureteric stents. Curr Opin Urol **16**: 77-82,
- FARSI HMA, MOSLI HA, AL-ZEMAITY MF, BAHNASSY A. A., ALVAREZ M. (1995). Bacteriuria and colonization of double-pigtail ureteral stents: long term experience with 237 patients. J Endourol **9**: 469-472,
- FERRARO G, AMBROSI G, BUCCI L, R PALMIERI, G PALMIERI. (1990). Fosfomycin trometamol versus norfloxacin in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infections of the elderly. Chemotherapy **36** (Suppl 1): 46-49
- FINNEY RP: Experience with new double J ureteral catheter stent. (1978). J Urol. **120**: 678-681,
- GELFAND M, JHONSON R. (1997). Single-dose Fosfomycin. Tromethamine: evaluation in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infection. Adv Ther **14** (2) 479.
- GUTIERREZ O., OCAMPO C., AGUILERA J., LUNA J., SUMANO L. (2008). Pharmacokinetics of disodium-fosfomycin in mongrel dogs. Research in Veterinary Science, **85**, 1, 156 – 161.
- HALEY RW, CULVER DH, WHITE JW., MORGAN W.M., EMORI T.G. (1985). The nationwide nosocomial infection rate: A new need for vital statistics. Am J Epidemiol **121**: 159-167,

- HEIDENREICH A., BECKER T, HEGELE A. (2002) Morbidity of internal Ureteral Stents: Prospective randomized Trial of Polyurethane versus Phosphorylcholine Coated Stents; Eur.Urology **1**, 1, , pp. 37-37(1)
- HILDEBRANDT P, RZANY A, BOLZ A. SCHALDACH M. (1997). Immobilisiertes heparin als inkrustierungsresistence beschichtung auf urologischen implantaten. Biomed Techn **42**: 123-124,
- HOLLENBECK BK, SCHUSTER TG, FAERBER GJ, WOLF JS. (2001). Routine placement of ureteral stents is unnecessary after ureteroscopy for urinary calculi. Urology. **57**: 639-43,
- HOLMES SAV. CHENG C. WITHFIELD HN .(1992).The development of synthetic polymers that resist encrustation on exposure to urine Br J Urol; **69**: 651-655.
- INAGAKI N, K. A., KATSURA K.KIMURA K., MINAMIDANI T(1982). Glow Discharge Polymerization of Chlorine Containing Fluoromethane. Int J Adhesion and Adhesives: **34**, 233-238,
- JANTZEN, G. M., ROBINSON J.R. (1996). In Modern Pharmaceutics. New York, Marcel Dekke,.
- JELLHEDEN B, NORRBY RS, SANDBERG T. (1996). Symptomatic urinary tract infection in women in primary health care. Bacteriological, clinical and diagnostic aspects in relation to host response to infection.;Scand J Prim Health Care;**14**(2):122-8,
- JOHNSON JR, (1991).Virulance factors in Escherichia coli urinary tract infection, Clin Microbiol Rev **4**:80.
- JONES D.S, GARVIN C.P, DOWLING D., DONNELLY K., GORMAN S. P.(2006). Examination of Surface Properties and In Vitro Biological Performance Of Amorphous Diamond-Like Carbon-Coated Polyurethane, J. Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials **24**, p.230-236 , April
- JONES G.LL., RUSSELL A.D., CALISKAN Z., STICKLER D.J. (2005). A Strategy for the Control of Catheter Bloockage by Crystalline Proteus mirabilis Biofilm Using the Antibacterial Agent Triclosan. Eur. Urology, **48** 838 -845,
- KADIOĞLU TC, TEFEKLI A, ESEN T.(1998). Double j üreteral stentlerin mekanik komplikasyonları ve üreterorenoskopi uygulaması. Türk Üroloji Dergisi **24**: 159-163,.
- KAMINSKA, A., H. KACZMAREK, KOWALONEK J (2002). The influence of side groups and polarity of polymers on the kind and effectiveness of their surface modification by air plasma action. European Polymer Journal **38**(9): 1915-1919,
- KEHINDE EO, ROTTIMI VO, AL-AWADI KA, ABDUL-HALIM H ., BOLAND F., AL-HUNAYAN A ., PAZHOOR. A .(2002). Factors predisposing to urinary tract infection after J stent insertion. J Urol. **167**(3): 1334-1337
- KOÇAK İ, DÜNDAR M, ALTAY B.(2000).Double-j ureteral stentlerin enfeksiyon potansiyelleri: çok merkezli bir çalışma. Türk Üroloji Dergisi,**26**(4): 457-461,

- KUMON H: (1996). Pathogenesis and management of bacterial biofilms in the urinary tract. J Infect Chemother **2**: 18-28,
- LANGER, R. (1995)."1994 Whitaker Lecture - Polymers for Drug-Delivery and Tissue Engineering." Annals of Biomedical Engineering **23**(2): 101-111,
- LANGER, R.(1998)."Drug delivery and targeting." Nature 392(6679): 5-10,
- LAUBE N, KLEINEN L , BRADENAHJ J , MEISSNER A. (2007). Diamond-like carbon coatings on ureteral stents - A new strategy for decreasing the formation of crystalline bacterial biofilms? Journal of Urology **177**: 5, 1923-1927 .
- LIEDBERG LTH, LUNDEBERG T. (1993). Prospective study of incidence of urinary tract infection in patients catheterized with BARD hydrogel and silver-coated catheters or bard hydrogel-coated catheters. J Urol **149**: 405A,
- LIEDL B. (2001). Catheter-associated urinary tract infections. Curr Opin Urol, **11**(1): 75–79,
- LIFSHITZ D, WINKLER HZ, GROSS M, LİVNE PM (1997). Bacteriuria and colonization of ureteral stents (abstract P1-11). J Endourol **11** (suppl 1): 88-91.
- LUNDEBERG T.(1986). Prevention of catheter-associated urinary tract infections by use of silver-impregnated catheters. Lancet i: 1031.
- MAKI DG, WEISE CE, SARAFIN HW. (1977).A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter infection. N Eng J Med;**296**:1305-1309.
- MANA-TECH, <http://www.mana-tech.com/factsheets/Urology.pdf> Erişim Tarihi: 17-10-.2008
- MARDIS HK, KROEGER RM, MORTON JJ, DONOVAN JM.(1993). Comparative evaluation of materials used for internal ureteral stents. J Endourol; **7**: 105.
- MNASSIAN MA, WILLIAMS JD. (1995). Rev Contemp Pharmacother, The clinical pharmacology of fosfomycin trometamol **6** (2) , 45-53.
- MONGA M, KLEIN E, CASTANEDA-ZUNIGA WR, THOMAS R. (1995).The forgotten indwelling ureteral stent: a urological dilemma. J Urol; **153**: 1817-1819.
- MORRIS NS, STICKLER DJ, MCLEAN RJ.(1999). The development of bacterial biofilms on indwelling catheters. World J Urol **17**: 345-50.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) report, data summary from October 1986-April 1996, issued May 1996.(1996). A report from the National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. Am J Infect Control. Oct;**24**(5):380-8.
- NEU HC, WILLIAMS JD. (1988). New Trends in Urinary Tract Infections: The Single-dose Therapy, - S Karger Pub., 242-249.
- Urologische Nachrichten (2001).Offprint from the 1. International Workshop on Phosphorylcholine Coated Stents in Urology Urologische Nachrichten,

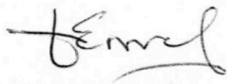
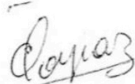
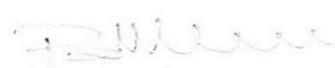
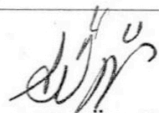
- PAICK SH, PARK HK, OH SJ, HYEON H.K.(2003). Characteristics of bacterial colonization and urinary tract infection after indwelling of double-j ureteral stent. Urology **62**: 214-217.
- PALMIERI G. (1988). A new single dose antibiotic in urinary tract infection treatment for elderly patients. in: Neu HC, Williams JD, editors. *New Trends in Urinary Tract infections*. Basel: Karger, pp. 322-324,
- PATEL S. S., BALFOUR J. A. & BRYSON H. M.(1997). Fosfomycin tromethamine : A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections; Drugs, **53**(4):637-656.
- POPILSKIS S.J., OZ M.C., GORMAN P., FLORESTAL A., KOHN D.F. (1991). Comparison of xylazine with tiletamine-zolezepam (telazol) and xylazine-ketamine anesthesia in rabbits. Lab Anim Sci; **41**: 51-53.
- POWER I, MCCORMACK J.(2007). Postoperative pain management: new, convenient analgesic therapies.Expert Opinion on Pharmacotherapy, **8**: 4, 391-399 .
- PRINCIPI N, Fosfomycin trometamol versus netilmicin in pediatric urinary tract infections. (1988). New Trends in Urinary Tract infections: Neu HC, Williams JD, editors.. Basel: Karger; pp. 322-324.
- RATNER, B.D., HOFMANN, A.S., SCHOEN, F.J., LEMONS, J.E. (1996). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Academic Press, Inc, New York, 484s.
- REEVES DS. (1992).Treatment of bacteriuria in pregnancy with single dose fosfomycin trometamol: a review. Infection; **20** (Suppl 4): S313-S316.
- REID G, HABASH M, VACHON D., DENSTEDT J.,RIDDELL J.(2001).Oral fluoroquinolone therapy results in drug adsorption on ureteral stents and prevention of biofilm formation. Int J Antimicrob Agents **17**: 317-20.
- REID G, SOBEL JD. (1987). Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infection: A review. Rev Infect Dis **9**: 470-487.
- RICHTER S, RINGEL A, SHALEV M, NISSENKOM I.(2000). The indwelling ureteric stent: a 'friendly' procedure with unfriendly high morbidity. BJU Int; **85**: 408-411.
- RIEDL CR, PLAS E, HUBNER WA, ZIMMERL H, ULRICH W, PFLUGER H.(1999). Bacterial colonization of ureteral stents. Eur Urol, **36**(1):53-59.
- RINGEL A, RICHTER S, SHALEV M, NISSENKORN I.(2000). Late complications of ureteral stents. Eur Urol. **38**: 41-4.
- ROMERO R, ROYARZUN E, MAZOR M, SIRTORI M, HOBBS J.C., BRACKEN M.(1989). Meta-analysis of the relationship between asymptomatic bacteriuria and preterm delivery/low birth weight. Obstet Gynecol **73** (4): 576-582.
- ROUPRET M., DAUDON M., HUPERTAN V., GATTEGNO B. (2005). Can Ureteral Stent Encrustation Analysis Predict Urinary Stone Composition? Urology,**66** (2)246-251.

- RUSSELL, J.C. Bacteria, Biofilms, and Devices. (2000). The Possible Protective Role of Phosphorylcholine Materials J Endourol, **14**(1) 39-42.
- SALTZMAN B. (1988). Ureteral stents: Indications, variations, and complications. Urol Clin North Am **15**: 481-491.
- SCHWAIBOLD H. (2001). Phosphorylcholin-beschichtete Ureterschienen: Neue Perspektiven der ureteralen Harnableitung Jahrbuch der Urologie.
- SEYMOUR H, PATEL U. (2000). Ureteric stenting: Current status. Semin Intervent Radiol; **17**: 351-365.
- SIEGEL, R. A. (1997). In Controlled Drug Delivery Challenges and Strategies. Washington, DC., American Chemical Society.
- SINGH I, GRUPTA NP, HEMAL AK, ARON M, SETH A, DOGRA PN. (2001). Severely encrusted polyurethane ureteral stents. Management and analysis of potential risk factors. Urology; **58**: 526-531.
- SOFER M, DENSTEDT JD. (2000). Encrustation of biomaterials in the urinary tract. Curr Opin Urol, **10**(6): 563-569.
- SOMERS W. (1996). Management of forgotten retained indwelling ureteral stents. Urology; **47**: 431-435.
- STEFANIAK, E. A., WOROBIEC, A., POTGIETER-VERMAAK, S., ALSECZ, A., TOROK, S., VAN GRIEKEN, R. (2006) Molecular and elemental characterisation of mineral particles by means of parallel micro-Raman spectrometry and scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray analysis. Spectrochimica Acta Part B- Atomic Spectroscopy **61**: 7, 824-830.
- TENKE P, JACKEL M, NAGY E. (2004). Prevention and treatment of catheter-associated infections: Myth or reality?. Eur Urol Update Series **2**: 106-15.
- TODAR K, Todar's Online Textbook of Bacteriology, Pathogenic E. coli; <http://www.textbookofbacteriology.net/e.coli.html> Erişim Tarihi kasım 2008.
- TRAXER O, DAUDON M., DORE B., AMIEL J., HADJADJ H., CONORT P. (2006). Nature and Characteristics of Double J stent Encrustations. European Urology Supplements, Volume **5**, Issue 2, Pages 70 – 70.
- TURUNÇ T. (2003). Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülen üriner kateterle ilişkili nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonları Türk Üroloji Dergisi **29** (2): 209-214.
- TUSEK L, MIRKO N, WERNER C, STANA-KLEINSCHKE K, RIBITSCH V. (2001). Surface Characterization of NH₃ Plasma Treated Polyamide 6 Foils, Biotechnology Techniques **9**: 413-416.
- WARREN JW, MUNCIE HL JR, HALL-CRAGGS M. (1988). Acute pyelonephritis associated with bacteriuria during long term catheterization: A prospective clinicopathological study. J Infect Dis **158**: 1341-1346.

- WATTERSON JD, CADIEUX PA, STICKLER D, REID G, DENSTEDT JD.(2003). Swarming of *Proteus mirabilis* over ureteral stents:a comparative assessment.; J Endourol, **17**(7): 523-527.
- WIKIPEDIA, <http://en.wikipedia.org/wiki/Stent>, Erişim tarihi:19 Eylül 2008.
- WILLIS S.L.¹; COURT J.L.; REDMAN R.P.; WANG J.-H.; LEPPARD S.W.; O'BYRNE V.J.; SMALL S.A.; LEWIS A.L.; JONES S.A.; STRATFORD P.W. (2001).Biomaterials, A novel phosphorylcholine - coated contact lens for extended wear use **22**: 24, 3261-3272(12)
- WOOD SJ ; (1999a).Ureteric stents material and design; Urology News **3**:10-12 ,
- WOOD SJ, CHOONG SKS, WANG JH, RUSSELL J, WHITFIELD HN. (1999b). Phosphorlycholine: A coating that is hydrophilic but does not increase encrustation; British Journal of Urology International **83** (S4): 129: 35.
- YASUDA T, OKUNO T, YASUDA H. (1994) Contact Angle of Water on Polymer Surfaces, Langmuir, **10**, 2435-2439,
- YENİYOL C.Ö., TUNA A., YENER H, ZEYREK N, TİLKİ A,COŞKUNER A. (2002). A Bacterial colonization of double J stents and bacteriuria frequency. Int Urol Nephrol, **34**(2): 199-202
- ZIMSKIND PD, FETTER TR, WILKERSON JL.(1967). Clinical use of long-term indwelling silicone rubber ureteral splints inserted cystoscopically. J Urol; **97**: 840-844.
- ZISMAN A, SIEGEL YI, SIEGMANN A, LINDNER A.(1995).Spontaneous ureteral stent fragmentation. J Urol; **153**: 718-72.

Ek.1. Etik Kurul İzni

ANKARA ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ
Etik Kurul Kararları

Karar Sayısı: 2006/07	Karar Tarihi: 26 Ocak 2006	
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kuruluna Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığından gönderilen "<i>Fosfomisin Trometamol Kaplı Ureteral Stentlerin Sık Karşılaşılan Üropatojenlere ve Enkrustasyona Karşı Etkinliğinin İnvitro ve İnvivo Olarak İncelenmesi</i>" başlıklı proje değerlendirilmiştir. Çalışmada, 24 adet erişkin New Zealand White ırkı erkek tavşan kullanılacaktır. Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesinin 13. Maddesinde belirtilen "<i>etik kurallara uygunluk esası</i>" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir. Yönergede belirtilen "<i>Araştırmacıların Sorumlulukları</i>" ve "<i>Hayvan Deneyleri ile İlgili İlkeler</i>" başlıkları altındaki etik kurallar saklı kalmak koşuluyla projenin hazırlanmasında "<i>Etik Kurul Yönergesi</i>" ilkelerine uyulduğuna karar verilmiştir.		
 Prof. Dr. Bahri Emre Başkan	 Prof. Dr. Öznur Poyraz Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Bahattin Koç Üye
 Doç. Dr. Ender Yarsan Üye	 Yrd. Doç. Dr. Atilla Özgür Raportör	

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Muharrem Murat
Soyadı : Yıldız
Doğum yeri ve tarihi : Ankara - 12/04/1965
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Evli
Askerlik durumu : -
İletişim adresi ve telefonu : Bilkent Bahçe Konutları No:54
Çankaya - Ankara
Tel/Fax: 0 312 266 67 03
Cep : 0 542 236 68 69
E-mail : ozelurology@hotmail.com

II- Eğitimi

1992-1996, GATA VE Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Ankara Üroloji Asistanlığı Üroloji Uzmanlık eğitimimi tamamladı.

Gebe koyunlarda fetal cerrahi ile fetal obstrüksiyonun etkilerinin araştırılması tezimi tamamladı.

1989-1990, GATA VE Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Ankara Stajyer Tabiplik eğitimini 5. olarak tamamlanarak K.K.K. Lojistik Komutanlığı Sağlık ve Veteriner Şube Müdürlüğü - Ankara' da göreve başladı.

1983-1989, GATA VE Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Ankara Tıp Fakültesi eğitimi tamamlandı.

Yabancı dili : İngilizce

III- Ünvanları

2006 – Üroloji Uzmanı operatör doktor
1989 – Tıp doktoru

IV- Mesleki Deneyimi

2004 - 2008 Özel Lokman Hekim Hastanesi Üroloji Uzmanlığı

2006 Türkiye’de ilk kez Synergo mesane kanseri tedavisi uygulamasını yaptı.

Green light lazer prostatektomi de lobektomi uygulaması yaptı.

Hipokontraktıl Mesane tedavisinde Ubretid kullanımına başladı

2003 - 2004 Medart Tıp Merkezi Uroloji Uzmanlığı

1996 - 2004, 600 yt. Mevki Asker Hastanesi Üroloji Uzmanlığı Ankara

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji AD. Doktora eğitimine başladı.2003

Tekrarlayan penil ürethral fistül onarımında dura ve fasia latayı literatürde ilk kez kullandım IMORU 2003 Hamburg'ta bildiri olarak sunuldu

Türkiye’de ilk kez stress inkontinansda T-Sling Mesh kullanımı tarafımdan gerçekleştirilmiştir.2003

Türkiye’de ilk kez üreteropelvik darlıkların tedavisinde üreterorenoskopik lazer endopyelotomi ameliyatını uyguladım. 2001 (Bildiri olarak Türk Uroloji Kongresinde sunulmuştur)2002

Stress inkontinans tedavisinde İn-Fast Kolposüspansiyon ameliyatına başladım.2001

Vulva ekartasyonu için kendi düşündüğüm lastikli saç tokası yöntemini kullanmaya başladım. 2000.

Türkiye'de ilk kez internet üzerinden sağlık danışmanlığı hizmeti veren isnet.net.tr/sağlık sitesinde ürolojik sağlık konularında danışmanlık hizmetini başlattım.2000

İnternet sağlık danışmanlığının KKK. karanet-web sayfasında başlaması için öncülük ettim

Türkiye'de Stress inkontinans tedavisinde Uro-Wive uygulamasının 18 vakalık en deneyimli serisi tarafımdan yapılmıştır.1999

Türkiye'de ilk kez üreteropelvik ve üreterovezikal darlıkların endourolojik tedavisinde acucise endopyelotomi ameliyatını uyguladım. 1999

Türkiye'de Türk Standartları Enstitüsü tarafından verilen TS-EN- ISO 9000 Kalite Yönetimi ve TS-EN-ISO 14000 Çevre Yönetimi Belgelerini ilk kez alan Kamu Hastanesi olan 600 Yataklı Mevki Asker Hastanesinde Toplam Kalite Yönetimi ve Çevre Yönetimi çalışmalarında aktif olarak bulundum.

Cerrahi grup koordinatörü ve tasarım sorumlusu olarak görev yaptım.1997-2003

Türkiye'de ilk kez Pelvic Pain Sendromu tedavisinde SANS (tibial sinir stimülasyonu) cihazının uygulamasına başladım.1998

Türkiye'de ilk kez Biodegradebl Prostatik Stent uyguladım.1997

Türkiyede ilk kez deneysel fetal koyun cerrahisi uyguladım.1994

Türkiye'de ilk kez tekrarlayan böbrek taşlarının sağaltımında Urocit-K uygulamasına başladım.1994

Penil venöz kaçağı olan empotans ve varikoselli hastalarında venotronik doğal flavonoid olan daflon ilacını kullandım.1993

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

- ISU , Uluslararası Üroloji Derneği Aktif üyesi
- EAU, Avrupa Üroloji Derneği Aktif üyesi
- Dünya Endouroloji Derneği Üyesi
- Türk Üroloji Derneği üyesi
- Türk Endoüroloji Derneği üyesi
- Çocuk Ürolojisi Derneği üyesi
- Türk Androloji Derneği üyesi

- Kontinans Derneği üyesi
- Ankara Ürologlar Derneği Üyesi

VI- Bilimsel İlgi Alanları

BİLDİRİLER

Muharrem Murat Yıldız, Tamer Çırak, Burcu Aslan, Serdar Demirtas, Abuzer Acar, Ahmet Akın, Emir Baki Denkbaş, Gülfem Öner; İn vivo idrar ortamı çalışmaları için tavşan mesane modeli oluşturulması; 20 Ulusal Üroloji Kongresi Antalya 1-6 Kasım 2008

Muharrem Murat Yıldız Tamer Çırak, , Burcu Aslan, Tayfun Vural, Ahmet Akın, Emir Baki Denkbaş, Gülfem Öner; Fosfomisin yüklü double-J stentlerin mikrobiyolojik incelenmesi; 20 Ulusal Üroloji Kongresi Antalya 1-6 Kasım 2008

Muharrem Murat Yıldız Tamer Çırak, , Tayfun Vural, Burcu Aslan, Ahmet Akın, Emir Baki Denkbaş, Gülfem Öner Fosfomisin yüklü double-J stentlerin hazırlanması ve karakterizasyonu ; 20 Ulusal Üroloji Kongresi Antalya 1-6 Kasım 2008

Yıldız M.M.,Results of closure of urethrocuteaneous fistulas with dura mater.,3 IMORU, 3. International Meeting of Reconstructive Urology,6 - 8 Mart 2003, Hamburg ,Almanya

Yıldız M.M.,Laser endoureterotomi: ureteropelvik ve ureterovezikal darlıklarda minimal invaziv yöntem;video sunumu 17.Ulusal Üroloji Kongresi , 5-10 Ekim 2002, Antalya.

Yıldız M.M.,Dura Mater ile ürethrokutaneöz fistül tamiri sonuçlarımız:yeni bir yöntem 17.Ulusal Üroloji Kongresi , 5-10 Ekim 2002, Antalya.

Yıldız M.M., Tuncay S: Biodegradebıl Prostatik Stent Uygulamasındaki Deneyimlerimiz. Balkan Askeri Tıp Kongresi,1999, Romanya

Yıldız M.M., Shapiro E., Dayanç M.M.,Peker A.F: Fötal Ürethral Parsiyel ve Total Obstruksiyonlarda Mesanede Oluşan Dinamik ve Histolojik Değişiklerin Değerlendirilmesi. Ulusal Üroloji Kongresi, 25-30 Ekim 1998, Antalya

Tuncay S, Yıldız M.M.: Erişkin Tek Taraflı Palpe Edilemeyen Testis Olgularında Laparoskopinin Değeri. Ulusal Üroloji Kongresi, 25-30 Ekim 1998, Antalya.

Yıldız M.M., Tuncay S: Biodegradebl Prostatik Stent Uygulamasındaki Deneyimlerimiz (Ön Rapor) , Ulusal Üroloji Kongresi, 25-30 Ekim 1998, Antalya

Yıldız M.M., Tuncay S: Biodegradebl Prostatik Stent Uygulamasındaki Deneyimlerimiz. (Ön Rapor) III.Ulusal Endoüroloji Kongresi.15-17 Mayıs 1998 , Edirne

A.Gökalp, Seçkin B., Kilciler M., Tahmaz L. Öktenli Ç.,Yıldız M.M.,Erduran D.:ESWL'den Sonra Oluşan Hematurinin Faz Kontras Mikroskopi ve Coulter Counter İle Araştırılması,2. Ulusal Endouroloji ve SWL Kongresi, 17-20 Nisan 1996,Adana-Mersin

Peker A.F., Dayanç M.,Özgök Y.,Yıldız M.M., A.Gökalp, Göktaş Kilciler M., Erduran D.:Benign Prostat Hiperplazisinde Transüretal Prostat Elektrovaporizasyon Uygulaması,2. Ulusal Endouroloji ve SWL Kongresi, 17-20 Nisan 1996,Adana-Mersin

Yıldız M.M., Dayanç M.M.,Peker A.F: Fötal Dönem Deneysel Araştırmaları İçin Gebe Koyun Modeli. III.Ulusal Pediatrik Üroloji Kongresi, 1-2 Mayıs 1995, Ankara.

YAYINLAR

Tuncay S., Yıldız M.M., Hüsamettin Sargın: Korpuz Kavernozunda Arterio - Laküner Fistüle Bağlı Bir Yüksek Akımlı Priapizm Olgusu. Üroloji Bülteni: Vol:9, No:3, 182-183, 1998.

Tuncay S., Yıldız M.M.: Bir Dev Hidronefroz Olgusu. Üroloji Bülteni Vol:9, No:2, 123-125, 1998.

Tuncay S., Yıldız M.M., Deveci M.S.,Testisin Büyük Hücreli Kalsifiye Sertoli Hücre Tümörü. Üroloji Bülteni: Vol:9, No:1, 60-61, 1998.

Göktaş S., Özgök Y., Yıldız M.M., Kilciler M., Peker A.F., Erduran D.: Konjenital Böbrek Anomalili Taş Olgularında ESWL' nin Tedavi Değeri. GATA Bülteni 39: 50-54, 1997.

Çalışır K., Özkök Y., Kilciler M., Gökalp A., Göktaş S., Yıldız M.M.,Erduran D.: Fertil ve Infertil Erkeklerde Seminal Plazma Bakır, Çinko, Selenyum ve Kadmiyum Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Türk Üroloji Dergisi 22 (3) : 287 - 293, 1996.

Gökalp A., Gökteş S., Yıldız M.M., Tahmaz L., Kilciler M., Erduran D., Harmankaya Ç.: Lokal Anestezi ile Optik Üretrotomi Intern. Türk Üroloji Dergisi 22 (4) : 426-431, 1996.

Seçkin B., Gökteş S., Yıldız M.M., Harmankaya Ç.: Bilateral granülomatöz orşit. Tüberküloz ve Toraks, Cilt:43, sayı:2, 86-88, 1995.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

VIII- Diğer Bilgiler

-20 Ulusal Uroloji Kongresi Antalya 1-6 Kasım 2008

-8. Ankara Üroonkoloji Kursu Ankara 28-11-2007 / 02-12-2007

-7. Ulusal Androloji Kongresi, Ankara 7-9 Haziran 2007

-22. Avrupa Uroloji Kongresi Berlin- Almanya Mart 2007

-Synergo , Yüzeyel Mesane Kanseri Tedavi Cihazı Teknik ve Uygulama Kursu, İsrail, 12-17 Kasım 2006

-Benign Prostat Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar Semineri, Cannes, Fransa, 14-17 Ekim 2006

-9. ICCS Biennial Meeting of the International Children's Continence Society ve ESPU course on "Surgery for the Incontinent Child and Bowel Problems" Antalya 14-17 Eylül 2006

-19. Ulusal Uroloji Kongresi Antalya 10-15 Haziran 2006

-21 Avrupa Üroloji Kongresi Paris, Fransa 5-8 Nisan 2006

-7. Ankara Üroonkoloji Kursu Antalya 22-25 Eylül 2005

-20. Avrupa Üroloji Kongresi İstanbul 16-19 Mart 2005

-18. Ulusal Uroloji Kongresi Antalya 2004

-Kontinans Derneği, İnkontinans Kursu, Ankara, 19-20 Mayıs 2004.

-Cinsellik ve Cinsel İşlev Bozuklukları Sempozyumu, Ankara, 21-22 Nisan 2004

-Sağlık Bakanlığı, Eğitim Becerileri Kursu, Ankara, 16-20 Haziran 2003

-GATA Üreme Sağlığı ve Aile Planlaması Eğitim Kursu, Ankara,16-20 Haziran 2003

-2.Genitoüriner Enfeksiyonlar Sempozyumu, Kapadokya, 22-25 Mayıs 2003

-IMORU III, 3. International Meeting of Reconstructive Urology, Hamburg , Almanya, 6-8 Mart 2003

-GATA Uzman Tabip Mesleki Gelişim Eğitimi Ankara,18 - 29 Kasım 2002

-17 Ulusal Üroloji Kongresi. Antalya, 5-10 Ekim 2002

-XVII EAU Avrupa Üroloji Derneği Kongresi,Birmingham, 26Şubat-1 Mart 2002

-Rahbound Tıp Fakültesi, Üroloji Kliniği,Nijmegen,Hollanda'da iki günlük inceleme gezisi.22 Şubat 2002 (Avrupa Uroloji Derneği Başkanı F.M.J. Debruyne yanında)

-4.Ulusal Androloji Kongresi,Ankara,7-10 Kasım 2002

-XVI EAU Avrupa Üroloji Derneği Kongresi,Cenevre, 12- 15 Nisan 2001

-Fleksibil Sistoskopi Kurs ve Work Shop,Olympos-Keymed, Ankara, 12 Aralık 2000

-2.Ürojinekoloji Mezuniyet Sonrası Kurs ve Work Shop, Ankara, Ekim 2000

-XV EAU Avrupa Üroloji Derneği Kongresi,Brüksel, 12- 15 Nisan 2000

-4. Ankara ve 1. ESU Blacksea Uro-Oncology Course ,Antalya,30 Eylül-3Ekim 1999

-XIV EAU Avrupa Uroloji Derneği Kongresi,Stockholm 4-7 Nisan 1999

-Rijit ve Fleksibil Üreterorenoskopi Kurs ve Kullanım Eğitimi, Cook-Storz. Stockholm 4-7 Nisan 1999

-European School of Urology Post Graduate Kurs, Diagnose and Management of Erectile Dysfunction,9 Nisan 1999

-European School of Urology Post Graduate Kurs, Infertility-Urological Aspect,8 Nisan 1999

-European School of Urology Post Graduate Kurs, Practical Urodynamics,10 Nisan 1999

- European School of Urology Post Graduate Kurs, Female Incontinans, 10 Nisan 1999
- European School of Urology Post Graduate Kurs, Paediatric Urology, 8 Nisan 1999
- 1.Kadın İdrar Kaçırma ve Urojinekoloji Kongresi, Ankara 1998
- 15. Ulusal Üroloji Kongresi. Antalya, 25-29 Ekim 1998
- 3. Endoüroloji Kongresi. Edirne, 14-16 Mayıs 1998.
- Türk Standartları Enstitüsü Kuruluş İçi Çevre Tetkikleri Eğitimi. 29-30 Nisan 1998.
- Türk Standartları Enstitüsü TS-EN-ISO 14000 Çevre Yönetim Sistemi Eğitimi. 15-16 Ocak 1998.
- 4. International Congress Of Dutch Urological Association. Maastricht-Netherland, 5-7 November 1997. (Main Topic: Neuro-Urology)
- 3. Ankara Üro-Onkoloji Kursu. 2-4 Ekim 1997.
- Türk Standartları Enstitüsü Kuruluş İçi Kalite Tetkikleri Eğitimi. 27-29 Mayıs 1997.
- Türk Standartları Enstitüsü TS-EN-ISO 9000 Kalite Yönetimi ve Kalite Güvencesi Standartları Temel Eğitimi. 28-30 Nisan 1997.
- 2.Ulusal Endoüroloji ve SWL Kongresi, Adana - Mersin, 17-20 Nisan 1996
- 5. Marmara Tıp Günleri. İstanbul, 16-19 Eylül 1996 fetal girişimsel uroloji konulu.
- 2. Akdeniz Video-Endoskopik Temel Cerrahi Kursu. 3-5 Nisan 1996.
- Pediatrik Ürodinami. Workshop İzmir, 2 Ekim 1995.
- III. Ulusal Pediatrik Üroloji Kongresi. 1-2 Mayıs 1995.
- I.Androloji Erkeğe Bağlı İnfertilite Sempozyumu. 24-26 Kasım 1994.
- Mikrocerrahi Kursu. GATA, 4-8 Aralık 1993.
- İmpotans Ve Korpus Kavernozum Revaskülarizasyon Sempozyumu Ve Kursu. 26-28 Ekim 1993.

-2. Ankara Üro-Onkoloji Kursu. 21-22 Eylül 1993.

-21.Dönem İleri Kardiyak Yaşam Desteği- Travmalarda Ve Savaş Alanında İleri -Yaşam Desteği (ADVANCED) Kursu. GATA, 14-25 Aralık 1992.

-30. Dönem İlk Ve Acil Yardım, Acil Tıp, Temel Yaşam Desteği (BASIC) Ve - Askeri - Tıbbi Adaptasyon Eğitimi. GATA, 12-30 Ekim 1992.

-S.S.Y.B. RİA Uygulama Kursu, Numune Hastanesi, Ankara, 4-25 Aralık 1990.